

## Tesis de Posgrado

# Estudio citológico sobre la presencia de sustancia nuclear en algunas Schizophyta

Rabinovich, Delia

1947

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Naturales 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](http://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](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Rabinovich, Delia. (1947). Estudio citológico sobre la presencia de sustancia nuclear en algunas Schizophyta. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0855\\_Rabinovich.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0855_Rabinovich.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Rabinovich, Delia. "Estudio citológico sobre la presencia de sustancia nuclear en algunas Schizophyta". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1947. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0855\\_Rabinovich.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0855_Rabinovich.pdf)

-----DELIA RABINOVICH-----

ESTUDIO CITOLOGICO SOBRE LA PRESENCIA  
DE SUSTANCIA NUCLEAR EN  
ALGUNAS SCHIZOPHYTA

---

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias  
Exactas, Físicas y Naturales de la Universi-  
dad de Buenos Aires, para optar al título de  
Doctora en Ciencias Naturales.

Delia Rabinovich

TRAB FINAL 855

Buenos Aires

1947

---

855

Al Profesor ALEXANDER GUILLERMOND, Maestro  
que me iniciara en el aprendizaje de las técnicas citoló-  
gicas, con admiración y respeto, como recuerdo afectuoso  
a su memoria, le dedico el presente trabajo.

---

La presente investigación ha sido realizada en el Instituto Bacteriológico "Dr. CARLOS G. MALBRAN" (S.S.P.), a cuya Dirección agradecemos las facilidades otorgadas.

Nos complacemos en expresar nuestro reconocimiento al Doctor FRANCIS DROUET, del "Field Museum of Natural History" de Chicago (U.S.A.), quien se ha ocupado de la determinación sistemática del material de estudio. Su reiterada gentileza en todas las oportunidades en que fuera consultado, el interés que nos ha demostrado y sus útiles consejos, nos permitieron corroborar las determinaciones taxonómicas realizadas con material de cultivo.

Las circunstancias han impedido requerir el consejo del Profesor ALEXANDER GUILLIERMOND, que tuviera a su cargo la cátedra de Botánica de "La Sorbonne" y la dirección del Laboratorio de Botánica del "P.C.B." ("Etudes Physiques, Chimiques et Biologiques"), bajo cuya dirección autorizada nos iniciáramos en el aprendizaje de las técnicas citológicas, cuyo conocimiento nos ha permitido realizar el presente trabajo, por lo cual expresamos nuestra gratitud.

Agradecemos al Ing. Agr. S. HOROVITZ, Director del "Instituto Fitotécnico de Santa Catalina" (Universidad Nacional de La Plata), la deferencia de haber examinado algunos de nuestros preparados y sus alentadoras observaciones.

A la Doctora ROSA R. de PIROSKY y al Doctor IGNACIO PIROSKY les expresamos nuestro reconocimiento por sus constantes consejos, críticas y múltiples sugerencias durante la realización de este trabajo.

El material fotográfico y fotomicrográfico que ilustra esta tesis, ha sido realizado en la "Sección Fotografía" del Instituto "Dr. CARLOS G. MALBRAN", a cargo de la Señora Catalina G. de Neumann, cuya empeñosa dedicación agradecemos.

---

## INTRODUCCION

Dada la importancia que ofrecen las investigaciones citológicas de los microorganismos, consideramos que constituiría una contribución interesante el estudio citológico de las algas azules, taxonomicamente próximas a las bacterias(1) y con una estructura celular más diferenciada.

En realidad, en un comienzo pensamos abordar directamente el estudio citológico de las bacterias, tema de tesis sugerido por el Ing. Agr. SANTOS SORIANO. Pero al ensayar las técnicas citológicas a emplearse utilizando las algas azules como término de comparación, pudimos observar en las células de estos organismos una configuración peculiar que no concordaba con las descripciones existentes, por lo cual consideramos de interés proseguir el desarrollo de estas investigaciones.

La revisión bibliográfica desde los primeros trabajos de SCHMITZ(1879), hasta las últimas contribuciones de GUILLIERMOND,

---

(1) En el sistema de clasificación de los vegetales de ENGLER-PRANTL, las algas azules (Schizophyceae) y las bacterias (Schizomyces) se agrupan en la misma División (Schizophyta).

HOLLANDE, POLJANSKY-PETRUSCHEWSKY, SPEARING y otros, revela que la estructura celular de las algas azules ha sido objeto de constante controversia. Si bien todos los autores concuerdan en describir en las células un citoplasma periférico y una zona central, -depositaria de la sustancia cromática para algunos-, es justamente respecto al carácter morfológico, naturaleza histoquímica, número y mecanismo de división de este elemento central, dónde divergen las interpretaciones de los autores. Así, mientras unos niegan la existencia de núcleo en las algas azules, otros consideran a la zona central, -cuerpo central-, como un núcleo comparable al de las células de los organismos superiores ó como un antecesor filogenético del mismo con un valor funcional equivalente.

Aún los investigadores que sostienen la existencia de un núcleo divergen respecto al mecanismo de su división. Para unos es una cariocinesis típica, para otros, se trata de una simple amitosis ó a lo sumo, de un mecanismo intermedio ó haplomitosis.

Considerando este tema de particular interés, decidimos abordar en el presente trabajo de tesis el estudio citológico de las Schizophyceae, con el objeto principal de aclarar en lo posible el significado histofisiológico del cuerpo central de las mismas en las distintas fases del crecimiento.

Este estudio ha sido desarrollado de acuerdo al siguiente plan:

- 1)-Observación citológica de numerosas especies de cianofíceas filamentosas, a fin de verificar la constancia de la estructura del cuerpo central. Exámen "in vivo", directo ó con colorantes vitales, y de material fijado y colorado según diversas técnicas que permitiesen el análisis comparativo de las estructuras resultantes.

2)-Aplicación de colchicina y sulfenil-amida a filamentos de cianofíceas, con objeto de verificar la posible variación del número de granulaciones cromáticas del cuerpo central durante las diferentes fases del desarrollo.

Al final, añadimos un breve estudio de la estructura citológica de una especie no determinada del género Beggiatoa (Thiobacteriales). El hecho de presentar estos elementos un aspecto morfológico muy semejante al de las Oscillatoriaceae, hacía de interés indagar si concomitantemente a esta analogía externa podía revelarse en Beggiatoa sp. una estructura que correspondiera al cuerpo central de las cianofíceas. La posible existencia de tal estructura, permitiría establecer a través de las Beggiatoaceae un vínculo entre Schizomycetes y Schizophyceae, vínculo que por otra parte algunos autores atribuyen a ciertas especies del orden de las Thiobacteriales (Rhodobacteriaceae).

---

## Cap. I-ANTECEDENTES

Desde la publicación del primer trabajo sobre citología de cianofíceas, SCHMITZ(1879), numerosos investigadores se han ocupado de este tema. Es de notar que la estructura de las algas azules ha interesado al citólogo, no sólo por el problema particular en sí, sino también desde el punto de vista filogenético, dado que representan la transición hacia los organismos con un núcleo bien diferenciado.

En los trabajos de PHILLIPS, GARDNER, GUILLIERMOND, etc., se encontrarán amplios resúmenes sobre las investigaciones citológicas realizadas sobre el tema. En esta contribución, dedicada en particular al estudio del "cuerpo central", sólo nos limitaremos a reseñar los trabajos relacionados con este tópico.

E. SCHMITZ(1879) en su primera memoria, afirma la existencia de un elemento central, homogéneo, que considera como núcleo celular, aunque no logra demostrarlo en todas las células. Al año siguiente, como resultado de nuevas investigaciones, se retracta de su primera opinión y concluye que las células de las algas azules son anucleadas. (1).

O. BUTSCHLI(1890-1902) estudia diversas especies de cianofíceas y bacterias.

---

(1) Tomado en O. P. PHILLIPS(1904).



Observa "in vivo" dos zonas fácilmente diferenciables: un "cuerpo central" incoloro y una "capa cortical" limitada exteriormente por una membrana ó pared celular. Afirma que el "cuerpo central" representa un núcleo primitivo, sin membrana, equivalente al núcleo celular de los organismos superiores. La "capa cortical" lleva el pigmento y constituye el citoplasma de la célula.

En material fijado con alcohol y colorado con hematoxilina férrica diluida, logra revelar en el "cuerpo central", un número variable de gránulos que se tiñen en rojo violado; por esta razón los denomina "gránulos rojos" y comprueba que a veces pueden faltar ó existir también en la zona cortical. En un principio supuso que estos "gránulos rojos" correspondían a los gránulos cromáticos de los núcleos superiores, pero posteriormente pudo comprobar que por sus propiedades químicas diferían de la sustancia cromática. Además, en el curso de otras investigaciones encuentra que los "gránulos rojos" del "cuerpo central" y del plasma son diferentes.

Para BUTSCHLI la división es directa, aunque en algunas especies observa ciertos aspectos que recuerdan una mitosis.

G. HIERONYMUS (1893) admite la existencia de un núcleo, representado por un filamento más ó menos espiralado y a lo largo del cual distingue gránulos ordenados en hilera. No observa membrana nuclear y propone el nombre de "núcleo abierto" para distinguir el "cuerpo central" de las cianofíceas del "núcleo cerrado" ó con membrana de las células de los organismos superiores.

Encuentra en las algas azules una sola categoría de gránulos.

G. NADSON (1895) en varias especies de cianofíceas y en dos espe-

cies bacterianas verifica los resultados de BUTSCHLI. Distingue una "zona cortical" y un "cuerpo central" que ocupa la mayor parte de la célula, y en el cual se destaca la "sustancia de relleno", de gran afinidad por los colorantes.

Considera tres tipos de gránulos: a) -gránulos de cromatina, localizado principal aunque no exclusivamente en el "cuerpo central". Corresponden a los "gránulos rojos" de BUTSCHLI; b) -gránulos de reserva, sólo revelables en la zona cortical y a menudo a lo largo de las paredes transversales. Corresponden a los gránulos de cianoficina de otros autores; c) -microsomas, característicos de determinadas especies.

Concluye que el "cuerpo central" es muy similar al núcleo de las plantas superiores y puede ser considerado como su antecesor filogenético.

A. B. MACALLUM (1899) encuentra en el "cuerpo central" una pequeña cantidad de sustancia semejante a la cromatina, uniformemente distribuida, que contiene hierro y fósforo orgánico y resistente a la digestión con jugo gástrico artificial. Observa dos tipos de gránulos: a) - localizados generalmente en la región periférica del "cuerpo central" se coloran con hematoxilina, contienen Fe y P y son solubles en jugo gástrico; b) - sólo presentes en la zona cortical, a menudo a lo largo de las paredes celulares, sin Fe ni P y fácilmente solubles en ácidos diluidos.

Concluye que en las cianofíceas no existe estructura alguna que corresponda al núcleo celular de los organismos superiores. (1).

J. MASSART (1902) mediante coloraciones vitales con azul de metile

---

(1) Tomado en O. P. PHILLIPS.

no distingue en el "cuerpo central" una "sustancia fundamental", constante, que identifica con los "gránulos rojos" de BUTSCHLI y los "gránulos de cromatina" de NADSON.

Durante la división no observa disposición particular alguna de la "sustancia fundamental", ni orientación de las granulaciones. Opina que las cianofíceas carecen de un núcleo típico, siendo la célula una simple masa protoplasmática, cuya porción periférica lleva el pigmento y en cuya zona central se acumulan determinadas sustancias, bajo forma de granulaciones colorables.

A. MEYER (1904) al estudiar la distribución de la volutina en el reino vegetal, describe en el "cuerpo central" de las cianofíceas, (Nocaceae y Oscillatoriaceae), numerosos gránulos de volutina que el autor asimila a los "gránulos rojos" de BUTSCHLI.

En cuanto al significado del cuerpo central, más que un núcleo celular se inclina a considerarlo como una vacuola cargada de sustancia de reserva.

De 1903 á 1905 aparecen los trabajos de PHILLIPS, KHHL y OLIVE. Estos autores, si bien concuerdan en admitir en las algas azules la existencia de un núcleo, que se divide mitóticamente, difieren en la descripción de las diversas fases de la división, aún en los casos de considerar las mismas especies.

O. P. OLIVE (1904) encuentra una estructura morfológica constante en las distintas especies estudiadas.

Utiliza cortes de 1 á 2 micrones de espesor y material sin cortar. Distingue "in vivo", un cuerpo central incoloro y el citoplasma periférico.

Con los colorantes nucleares ordinarios, el "cuerpo central" aparece formado de "vesículas de cromatina", resistentes a la digestión con jugo gástrico artificial. Dichas vesículas adquieren en cambio por acción de dicho jugo, un color amarillo característico, semejante al observado en núcleos de Spirogyra sp., en experiencias paralelas de control. No observa membrana nuclear. El estado de reposo está representado por las "vesículas de cromatina". Al iniciarse la división, estas vesículas ceden su cromatina que difunde a través de todo el cuerpo central, formando gradualmente un retículo, cuyos filamentos se coloran débilmente. En dicho retículo se observan gránulos de cromatina que se multiplican por simple división transversal.

En ningún momento, el autor encuentra una escisión longitudinal, mecanismo que en los núcleos de los organismos superiores, asegura la repartición equitativa del material hereditario.

El proceso de división puede detenerse en aquel estado. El retículo entonces se estrecha en su parte media al mismo tiempo que la pared transversal inicia su crecimiento centrípeto. Finalmente el cuerpo central se separa en dos partes casi iguales, y el tabique forma la pared de división.

En otros casos el mecanismo es más complejo y se asemeja a una cariocinesis primitiva. El retículo se resuelve en un espirema y los gránulos de cromatina se disponen uno frente al otro. El espirema se orienta en el sentido del eje de la célula y se corta en segmentos aproximadamente iguales, que según el autor pueden ser llamados cromosomas, los cuales se dividen por simple partición transversal.

El número de cromosomas no es constante para una especie determinada. Admite la formación de un huso, que denomina "abierto", porque cada cromosoma actúa independientemente. Los cromosomas hijos se desplazan en

sentido opuesto, unidos aún por un fino "tractus" de linina. En este momento se inicia la formación de la pared transversal y una vez completa, la cromatina se hace difusa y forma "vesículas" ó "retículo" según que la célula pase a un estado de reposo ó entre nuevamente en división.

Concluye que el "cuerpo central" es un verdadero núcleo celular, que se divide por sí mismo y no como resultado del crecimiento de la pared transversal. En él, supone el autor, ha comenzado a diferenciarse una división mitótica que no ha alcanzado aún el grado de evolución que muestra en los núcleos de los organismos superiores.

Ambos procesos de división pueden encontrarse en una misma especie.

F.G. KOHL (1903-1905) sostiene que el "cuerpo central" es un núcleo sin membrana ni nucleolos, cuya división es cariocinética.

Durante la mitosis distingue seis estados diferentes:

- 1)-Formación de un espirema.
- 2)-Resolución del espirema en un número definido de segmentos cromáticos ó cromosomas, 4 ó 6 ó 4 ó 8, que se disponen paralelamente en el sentido del eje mayor de la célula.
- 3)-Constricción de la figura cromosómica en su parte media.
- 4)-Estado di-aster, en el que los cromosomas hijos se separan en dos grupos. En casos favorables ha podido observar las fibras del huso.
- 5)-Los cromosomas hijos avanzan hacia los polos correspondientes.
- 6)-Formación del nuevo espirema, en cada una de las células hijas.

En los cromosomas no ha logrado distinguir indicios de escisión longitudinal.

El clivaje celular acompaña la división del cuerpo central.

E.W. OLIVE (1905) admite en las cianofíceas la existencia de un núcleo que se divide mitóticamente.

En el "cuerpo central" diferencia una "sustancia acromática", muy densa, y "gránulos de cromatina", que denomina cromosomas.

En todas las formas estudiadas con excepción de Cylindrospermum sp. el número de cromosomas es constante para una especie dada.

Durante la división se forma un huso acromático de aspecto variable y fibras que se extienden desde los cromosomas hasta las paredes transversales.

Cada cromosoma estaría representado por un simple gránulo de cromatina. El espirema resulta de la unión de los gránulos cromáticos por un filamento de linina. En los cromosomas observa una escisión longitudinal y en Gloeocapsa sp. (elementos unicelulares) el simple filamento espiremático se hiende a lo largo, a partir de ambos extremos. Opina el autor que en forma análoga debe realizarse la escisión en las especies filamentosas, con un espirema más complicado.

El "cuerpo central" parece estar siempre en actividad mitótica y sólo en raras ocasiones hay formas de reposo, en las cuales OLIVE observa una delicada membrana nuclear. En las esporas y heterocistos, los núcleos en reposo, muestran no solamente una membrana bien definida, sino también un número variable de vacuolas.

A. FISCHER, desde 1897 se coloca entre los adversarios de la teoría nuclear del "cuerpo central". Sostiene que las cianofíceas carecen de núcleo y que las granulaciones colorables que se ponen de manifiesto en el "cuerpo central" representan sustancias de reserva.

A raíz de los trabajos de BUTSCHLI, NADSON, KOHL y otros que consideran al "cuerpo central" como un núcleo primitivo, FISCHER (1905)

retoma el problema y reafirma su primera opinión. Opina que el "cuerpo central" constituye la zona de acumulación de un hidrato de carbono particular, que resulta de la condensación del glicógeno elaborado por el cromatóforo. Denomina "anabaenina" a este carbohidrato, por ser muy abundante principalmente en especies del género Anabaena.

Durante la división celular los gránulos de "anabaenina" contenidos en el "cuerpo central", se distribuyen en cantidades aproximadamente iguales entre ambas células hijas. Observa figuras que recuerdan una mitosis y las designa con el nombre de "pseudo mitosis de hidratos de carbono".

Si bien FISCHER admite la presencia de nucleína difusa en el citoplasma y portadora de las cualidades hereditarias, niega al "cuerpo central" toda significación nuclear. Si se quiere hacer derivar de las cianofíceas el núcleo celular de los organismos superiores, se debe considerar como su precursor filogenético las "pseudo mitosis de hidratos de carbono". Este proceso habría armonizado más tarde con otros productos de la asimilación celular, por ejemplo, sustancias proteicas. Según FISCHER, con las mitosis nucleínicas se distribuirían las cualidades hereditarias y la diferenciación sexual.

. E. ZACHARIAS (1890-1907), en 1890, como resultado de sus investigaciones, concluye la existencia de sustancia nuclear en las células de las algas azules.

En el "cuerpo central" observa una ó dos sustancias resistentes a la digestión con jugo gástrico artificial: una, siempre presente se asemeja a la plastina; la otra corresponde por sus reacciones a la nucleína de los núcleos superiores y la denomina "sustancia central".

En el curso de estudios posteriores, se muestra reservado respecto

del significado del "cuerpo central" y hace notar que dicho elemento difiere notablemente de los núcleos celulares de los organismos superiores. (1892, 1893, 1907).

Concluye ZACHARIAS que el "cuerpo central" de las cianofíceas carece del elemento cromático de los núcleos verdaderos y relaciona con esta carencia la falta de procesos sexuales en las algas azules.

L.N.GARDNER (1906) observa en todas las células de las especies estudiadas, un núcleo más ó menos definido, sin membrana, formado por una "sustancia básica", "gránulos" y "cromatina".

La "sustancia básica" actúa como "matrix" en la cual los otros elementos están embebidos.

En cuanto a los "gránulos", éstos varían en número y tamaño según las especies y condiciones de nutrición.

En base al grado de diferenciación de la "cromatina" y su comportamiento durante la división, distingue tres tipos de núcleos:

1) - Tipo Difuso : representa el núcleo más primitivo y caracteriza a las Homocystae. La división es estrictamente amitótica.

2) - Tipo Cariosómico Reticulado: poco frecuente. Sólo ha sido observado en dos especies del género Dermocarpa.

3) - Tipo Mitótico Primitivo se caracteriza por presentar una división comparable a las mitosis de las clorofíceas inferiores.

GARDNER ha encontrado este tipo de división en una sola especie: Synechocystis aquatilis Sauv.

En Synechocystis aquatilis Sauv., el autor observa un filamento cromático que se resuelve en un número definido de segmentos (tres en el caso de esta especie), los cuales se dividen posteriormente por



simple partición transversal. Dichos segmentos cromáticos no muestran indicios de escisión longitudinal, mecanismo que en los cromosomas de los núcleos superiores, asegura la repartición equitativa de las cualidades hereditarias. Con todo, concluye el autor, las algas azules constituyen un grupo muy estable, en el cual, sin el complicado proceso cariocinético, cada generación se asemeja a la anterior en la misma medida que en el resto del mundo orgánico.

Distingue núcleos en actividad y núcleos en reposo.

A. GUILLIERMOND (1905-1933) considera el "cuerpo central" equivalente al núcleo de los organismos superiores. Es un núcleo primitivo, sin membrana, reducido a su red cromática y en un principio lo denomina "cromidium" ó "red cromidial", nombre dado por HERTWIG a los núcleos reducidos a su retículo cromático.

Después de fijación y coloración, el "cuerpo central" se presenta constituido por un "hialoplasma" y un "retículo", en el que se distinguen granulaciones cromáticas, reunidas por fibras acromáticas.

El aspecto de la red cromidial varía según las especies y con la edad de las células. En algunas es un ovillo denso, formado por numerosos filamentos delgados; en otras en cambio, dicha red integrada por un número reducido de elementos de mayor diámetro.

La división es amitótica y en algunos casos, la ordenación paralela de los cordones cromáticos al iniciarse el proceso, recuerda netamente la "haplomitosis" de A. P. DANGEARD.

Opina GUILLIERMOND que el "cuerpo central" por estar en constante división, conservaría casi siempre una estructura filamentosa, no habiendo en realidad estados de reposo.

Con métodos especiales, a más de las granulaciones cromáticas, se observa en el "cuerpo central" los "corpúsculos metacromáticos", que co

responden a los "gránulos rojos" de BUTSCHLI, a las "esferas mucilaginosas" de NADSON, a los "gránulos de anabaenina" de FISCHER, y a los "granos de volutina" de MEYER. Por sus propiedades son idénticos a los encontrados en levaduras y otros ascomicetos, no en el núcleo sino en su vecindad, comportándose como sustancias de reserva. En las células jóvenes dichos gránulos son muy pequeños y numerosos; en cambio, en las células adultas son escasos y de mayor tamaño. En su memoria del año 1906, GUILLIERMOND considera que los "corpúsculos metacromáticos" se forman en el "cuerpo central", representando por lo tanto productos de origen nuclear.

Posteriormente investiga la localización de la metacromatina y concluye que estos elementos son el resultado de la precipitación por acción de colorantes vitales y fijadores, se una sustancia contenida en vacuolas en el citoplasma periférico. Los "corpúsculos metacromáticos" sólo por un artificio aparecerían en el interior del "cuerpo central".

W. H. BROWN (1911) estudia la división celular de Lyngbya sp. Encuentra un "cuerpo central" ó núcleo, desprovisto de membrana, formado por una red de finas fibras, a lo largo de las cuales el autor ha logrado destacar pequeñas granulaciones. Estos elementos, red y granulaciones, aparecen embebidas en una sustancia clara, que recuerda el jugo nuclear.

E. ACTON (1914) investiga la estructura citológica de las cianofíceas monocelulares. (Chroococaceae).

Concluye que en ellas no hay un núcleo altamente especializado como en las células de las plantas superiores.

La estructura celular de las Chroococaceae muestra según ACTON, una

gradual transición desde una condición indiferenciada en las formas más primitivas, hasta las más especializadas. En esta serie, Merisporidia elegans representa un estado intermedio y Chroococcus macrococcus el más evolucionado.

C. BAUMGARTEL (1920) distingue en las células de las algas azules una zona periférica pigmentada ó "cromoplasma" y un "centroplasma" incoloro, que corresponde al "cuerpo central" de BUTSCHLI.

El "centroplasma" representa un núcleo abierto, sin membrana, en el cual se condensan los productos de asimilación en glicoproteidos y nucleoglicoproteidos.

BAUMGARTEL considera que en las cianofíceas, el "cuerpo central" tendría propiedades de núcleo y de plasto, razón por la cual lo denomina "carioplasto".

La división es siempre amitótica.

A. DEHORNE (1920-1922) diferencia un cuerpo cromático, sin membrana, de estructura reticular ó filamentososa, cuya división es comparable con ciertos estados de la división del núcleo de Spirogyra sp. Opina el autor que el aparato nuclear de las cianofíceas está en constante división y en consecuencia, ~~no~~ se observa membrana que delimite el "cuerpo central" ni núcleos en estado de reposo.

A. W. HAUPT (1923) destaca en las células de las Myxophyceae una "sustancia central", de aspecto granular, que constituye un núcleo de organización primitiva.

No observa membrana, ni formación de cromosomas, ni fibras acromáticas que sugieran un proceso cariocinético de división. La división es estrictamente amitótica.

Opina el autor, que la división de la "sustancia central", con algunas ó todas las funciones de la cromatina, podría anticipar el mecanismo mitótico de los núcleos bien diferenciados.

S. LEE (1927) considera al "cuerpo central" como un núcleo sin membrana, formado por una "sustancia acromática" y "gránulos de cromatina" en número más ó menos definido.

De la agregación de los gránulos cromáticos resulta un espirema, que posteriormente se resuelve en bastones que se asemejan a cromosomas. No observa formación de un huso y la división del "cuerpo central" precede siempre al clivaje celular.

LEE describe estados de reposo, en los cuales el "cuerpo central" aparece como un único corpúsculo homogéneo, intensamente teñido y mantenido en el centro de la célula por finas radiaciones.

Concluye que el "cuerpo central" podría ser considerado como homólogo del verdadero núcleo de las células de las plantas superiores.

G. POLJANSKY y G. PETRUSCHEWSKY (1929) utilizan en el estudio citológico de las cianofíceas la reacción de FEULGEN y como control de la misma, la reacción de MACALLUM para la identificación de P orgánico, uno de los elementos constitutivos del ácido timonucleico. Emplean además las técnicas citológicas corrientes.

Los diversos métodos empleados conducen a estructuras superponibles. La reacción nuclear de FEULGEN es positiva y reproduce la estructura que dá la hematoxilina férrica en los preparados bien diferenciados.

En el "cuerpo central" encuentran un material que dá FEULGEN y MACALLUM positivas, y retiene además los colorantes básicos comunes. Admiten que se trate muy probablemente de sustancia nucleínica, a la

que corresponde como elemento el ácido tñmonucleico.

La "sustancia cromática" se presenta en forma de bastones, gránulos, etc., unidos por finas anastomosis. No hay mitosis aparente, ni huso, ni formación de cromosomas. No observa membrana que delimire el "cuerpo central". La división de los elementos cromáticos se realiza por simple partición transversal.

Concluyen que sus observaciones no les dan bases suficientes para considerar al "cuerpo central" como homólogo del núcleo de los organismos superiores. Aproximan sus resultados a los de GUILLIERMOND y GARDNER. La "red cromidial" de GUILLIERMOND correspondería a la "sustancia cromática" de los autores.

P. GAVAUDAN y N. GAVAUDAN (1933) distinguen con colorantes vitales y en preparados fijados y colorados, un "cuerpo central" cuya presencia es constante en todas las células. Con esto verifican los resultados de GUILLIERMOND, contrariamente a lo sostenido por HOLLANDE, para quien el "cuerpo central" puede faltar en muchas células.

Concluyen los autores, que hasta más amplia información, no rechazan el valor de un núcleo para el "cuerpo central" de las cianoffceas.

H. F. M. PETER (1933) estudia la reacción nuclear de FEULGEN en una serie de vegetales inferiores. En las cianoffceas (Phormidium sp.), obtiene una reacción positiva localizada en el "cuerpo central". Estos resultados confirman los de POLJANSKY-PETRUSCHEWSKY y aportan nuevos argumentos en favor de la hipótesis sostenida por GUILLIERMOND.

Ch. HOLLANDE y G. HOLLANDE (1932-1933) aplican al estudio citológico de las cianoffceas el método de coloración con eosinatos de soda de

azul y violeta de metileno y llegan a una nueva concepción de la estructura citológica de las algas azules. Utilizan además las técnicas comunes.

Opinan que el núcleo desnudo, sin membrana ó "aparato cromidial" de los autores, que dá reacción de FEULGEN y MACALLUM positivas, no debe ser considerado como el reemplazante de la cromatina de los núcleos superiores, sino solamente como una secreción protoplasmática particular, propia de las cianofíceas y de muchos microbios patógenos. Esta secreción no sería constante y falta en las células jóvenes de Nostoc verrucosum Vauch. y Phormidium uncinatum Gomont. Durante la división, dicha secreción protoplasmática se reparte entre ambas células hijas, por simple partición transversal.

El núcleo de las algas azules estaría en cambio representado por el "nucleosoma" ó "aparato nucleosómico", formado de dos elementos que se coloran diferentemente con los eosinatos: el "centronucleosoma" que en preparados muy decolorados toma un tinte azulado, pequeño y generalmente en división; y el "epinucleosoma", de mayor tamaño, adosado al anterior y que en idénticas condiciones se tiñe en rojo violado.

En cada célula habría numerosos "nucleosomas", los cuales se multiplican por simple estiramiento, siendo frecuente observar un fino "tractus" que une los dos "nucleosomas" hijos.

J.K. SPEARING (1937) encuentra en las especies de Myxophyceae estudiadas, un aparato cromático presente en todas las células con excepción de heterocistos y células en degeneración.

En los elementos jóvenes, el aparato cromático se presenta como un "retículo cromático", formado por gránulos de diferente tamaño, que se tiñen intensamente y unidos entre sí por finas anastomosis. Las malla

del retículo son comparables a las de un núcleo ordinario. No observa membrana que delimite el "cuerpo central".

En las células viejas el "retículo cromático" aparece menos denso, menos definido, ocupa la mayor parte de la célula y se muestra constituido por gruesos filamentos intensamente teñidos y de aspecto denso. Encuentra además un número variable de corpúsculos semejantes a nucleolos.

La división es amitótica. Consiste en una estrangulación gradual del "cuerpo central" y parece ser previa al clivaje celular.

SPEARING no logra revelar la presencia de elementos semejantes a cromosomas, ni encuentra trazas de huso acromático ni fibras.

B. DELAPORTE (1940) estudia la citología de Spirulina versicolor.

Comprueba la existencia de un "filamento central", constante en todas las células y que muestra los caracteres de la cromatina. Dicho "filamento central" da una reacción de FEULGEN positiva.

A este elemento los autores denominan "cuerpo central" y le atribuyen el papel de un núcleo celular.

---

De este reseña bibliográfica, referente a los datos que resumen los conocimientos respecto al "cuerpo central" de las cianofíceas, vemos que tanto su estructura citológica como su significación celular, han sido diversamente interpretados por los distintos investigadores.

Las cuestiones más importantes que desde un comienzo polarizaron la atención de los citólogos puede resumirse así:

- 1)- Existe un núcleo en las células de las cianofíceas?
- 2)- Cual es su estructura?
- 3)- El mecanismo de la división es simplemente directo ó corresponde a un proceso cariocinético?

SCHMITZ, el primero que se ocupó de la citología de las algas azules, niega la existencia de un núcleo en las mismas.

MASSART, MEYER y FISCHER consideran al "cuerpo central" como una zona de acumulación de sustancias de reserva.

En cambio, la mayoría de los autores coinciden en admitir la existencia de un núcleo sin membrana, de organización primitiva y cuya división precede al clivaje de la célula.

Para BUTSCHLI, NADSON, GARDNER (con excepción de Synechocystis aquatilis Sauv.), GUILLIERMOND, BAUMGARTEL, DEHORNE, HAUPT, POLJANSKY-PETRUSCHEWSKY, SPEARING, etc., el proceso de la división del "cuerpo central" es simplemente amitótico ó encuadraría a lo sumo dentro de la haplomitosis.

Por el contrario KHOL, OLIVE y PHILLIPS opinan que la división es cariocinética y describen la formación de cromosomas.



En cuanto al número de núcleos existentes en cada célula, todos los autores coinciden en admitir uno por célula, con excepción de HO-LLANDE, quien observa varios nucleosomas en cada célula.

Por otra parte, hay uniformidad de opinión, respecto a la naturaleza proteica del "cuerpo central" ó de sus elementos. Completamente aislado queda el punto de vista de FISCHER, para quien la composición química del "cuerpo central" corresponde a la de un carbohidrato que denomina "anabaenina" por ser particularmente abundante en especies del género Anabaena.

---

## Cap. II-MATERIAL

El material de estudio procede de la ciudad de Buenos Aires y sus alrededores. Ha sido recogido en charcos, lagunas, fuentes, zanjones y sobre tierra húmeda.

Las cianofíceas comparten este "habitat" con diversos micro-organismos (bacterias, hongos, diatomeas, clorofíceas, etc.), y para identificarlas ó estudiar su estructura deben ser aisladas y cultivadas en medios artificiales.

En el proceso de la purificación, sólo se ha llegado al cultivo uni-algal, ya que desde el punto de vista citológico era innecesaria la preocupación de obtener cultivos bacteriológicamente puros. Las muestras recogidas se siembran, bien en agua de canilla estéril con 0,02% de fosfato bipotásico, ó sobre mezclas de tierra, arena y agua, estéril, y se exponen los frascos a la luz. Al cabo de un tiempo variable, una á tres semanas, la presencia de cianofíceas se revela por su color verde azulado característico. A partir de este material se obtienen los cultivos uni-algales.

### Cultivo uni-algal.

Se ha seguido la técnica empleada por CZURDA (1925) para el aislamiento de conjugadas y la utilizada por CATALDI (1941) para el aislamiento de cianofíceas y algas monocelulares.

En una caja de Petri estéril, se vierte esterilmente 15 ml. del medio de cultivo adecuado, adicionado de agar lavado al 1,5%. Se deja en-

friar. Como hace notar CATALDI, puede utilizarse solamente agua-agar al 1,5% puesto que no se espera el desarrollo de las algas. Una vez solidificado el medio, se deposita sobre la superficie un copo del material previamente lavado con agua de canilla estéril. La caja se coloca abierta ó invertida en una estufa a 37°C durante 10 á 15 minutos, a fin de secar la superficie del medio y reducir el agua del copo. Luego la caja se expone a la luz, a la temperatura del laboratorio durante algunas horas ó hasta el día siguiente.

Durante este intervalo, las cianofíceas filamentosas dotadas de movimientos deslizantes se alejan del copo inicial (punto de infección máxima), y se procura aislar los filamentos más distantes del punto de la siembra. El aislamiento se realiza directamente, cortando el trocito de agar que lleva los filamentos, con un bisturí estéril. El material se pasa al medio de cultivo y se expone a la luz difusa, a la temperatura del laboratorio.

Según las especies, al cabo de 3 á 7 días, se observa un desarrollo abundante.

Las cianofíceas se han cultivado en el medio de DETMER(1), con muy buenos resultados:

Nitrato de calcio	1 gr.
Fosfato monopotásico	0,25 gr.
Cloruro de potasio	0,25 gr.
Sulfato de magnesio (7 H <sub>2</sub> O)	0,25 gr.
Agua de canilla	1.000 ml.

Se diluye en la proporción de 1:3 y se añade 0,01% de cloruro férrico. Esterilizar durante 15 minutos a 120°C. Filtrar, repartir en tubos de ensayo y esterilizar nuevamente. Si se desea un medio sólido, agregar al anterior agar lavado en la proporción de 1,5%.

Los cultivos se realizan en tubos de ensayo (160 mm. x 16 mm.) y prefe-

---

(1) Tomado de A.S. WAKSMAN, Principles of Soil Microbiology, pg. 218.

rentemente en medio líquido. Se exponen a la luz difusa y se mantienen a la temperatura del laboratorio. Se repican cada 15 días, a fin de disponer en todo momento de formas jóvenes, en crecimiento activo. De esta manera se ha podido comprobar que las estructuras observadas se mantienen a través de un gran número de generaciones.

Para conservar las cepas, se siembran en frascos de 120 ml. de capacidad con 80 ml. de medio de cultivo. Se mantienen en forma análoga a los anteriores y se repican cada 4 ó 5 meses.

Hemos estudiado las siguientes especies de Schizophyceae:

Microcoleus vaginatus Gomont.

Phormidium autumnale Gomont. (3 formas).

Oscillatoria Grunowiana Gomont. (2 formas).

Oscillatoria animalis Gomont.

Lyngbya Giuseppei Drouet.

Plectonema Nostocorum Gomont.

Plectonema purpureum Gomont.

Calothrix parietina Bornet et Flahault.

y una especie no identificada de Schizomycetes:

Beggiatoa sp. (1).

De la determinación sistemática del material estudiado, se ha ocupado el Doctor FRANCIS DROUET del "Field Museum of Natural History" de Chicago (U.S.A.), a quien agradecemos su valiosa colaboración.

La primera colección de cepas enviada al Dr. F. DROUET provenía

---

(1) Agradecemos a la Dra. M. S. CATALDI las cepas que gentilmente nos ha facilitado.

de cultivos en medio líquido; los filamentos fueron extendidos sobre papel "celofan". Dado que la sistemática de las cianofíceas se basa en gran parte en las características de la vaina, y ésta puede faltar en el material cultivado en medio líquido por deslizamiento de los tricomas (DROUET, 1943), el Dr. DROUET nos sugirió la idea de cultivarlas sobre tierra estéril húmeda, a fin de evitar este serio inconveniente. Las colecciones remitidas posteriormente fueron preparadas en estas condiciones.

---

### Cap. III-MÉTODOS

El material se ha estudiado:

a)-"In vivo".

b)-Fijado y colorado.

a)-Observaciones con material vivo.

La observación "in vivo" se realizó en gota pendiente con el mismo medio de cultivo; los bordes del cubre-objetos se untaron con parafina fundida ó con vaselina, a fin de evitar el desecamiento por evaporación. En estas condiciones se apreció fácilmente el movimiento de los filamentos, existencia ó ausencia de vainas, la distinta refringencia de los diversos elementos celulares, formación de hormogonios, morfología de los ápices de los tricomas, presencia de heterocistos y su posición en el filamento, etc.

Además de la observación directa, el material se sumergió en soluciones de diferentes colorantes, según los elementos que se desearon reconocer.

Identificación de grasas: se utilizó una solución saturada de Sudan III en alcohol 70%. Los filamentos vivos se pusieron en contacto con el reactivo durante unos 30 minutos; luego se enjuagaron rápidamente con agua y fueron examinados en una gota de glicerina. Las grasas aparecen teñidas en rojo.

Identificación de almidón y glicógeno: se empleó el reactivo de Lugol. Sobre un porta-objeto se extendió una pequeña cantidad de material vivo en una gota de la solución iodo-ioduro de potasio; después de cubrir se examinó al microscopio.

En estas condiciones, el almidón se tinte en azul intenso y el glicógeno en pardo rojizo. Ambas coloraciones desaparecen por calentamiento a 60° C y reaparecen al enfriar el preparado.

Coloraciones vitales: estas coloraciones sólo son vitales durante un corto período de tiempo, según la toxicidad del colorante y la concentración de la solución empleada.

La identificación de cromatina y metacromatina se realizó con azul de metileno (1 ml. de solución saturada de azul de metileno en alcohol 70% más 30 ml. de agua destilada). Para diferenciar cromatina de metacromatina (volutina de MEYER), se usó ácido sulfúrico al 1%, agua hirviente, etc.

El sistema vacuolar se coloró con Rojo neutro en solución 0,002% a 0,005%.

b) Observaciones con material fijado y colorado.

Se han utilizado cortes de 2 a 3 micrones de espesor y material en películas.

En el primer caso, el método de la micro-inclusión de CHATTON y LWOFF (1936), que consiste en englobar el material en agar al 1,3%, nos ha dado óptimos resultados (1). En el segundo caso, las películas de filamentos formadas en los cultivos jóvenes, se desprendieron cuidadosa-

---

(1) Hemos descripto detalladamente esta técnica, al utilizarla con resultados satisfactorios en el estudio citológico de protozoarios. (RABINOVICH, 1940).

mente y se pasaron al líquido fijador.

Toda la manipulación requerida por la fijación, lavado, coloración, deshidratación y montaje, se realizó pasando las películas por una serie de cristalizadores dispuestos en orden, con los líquidos correspondientes, tomando el material con agujas y ansas de vidrio. Ya en xilol ó toluol, las películas fueron extendidas en bálsamo de Canadá ó en resina Dammar.

Desde el punto de vista técnico y a fin de evitar cualquier error determinado por un único método, hemos procurado utilizar el mayor número posible de mezclas fijadoras y los más diversos sistemas de coloración.

Todos los métodos empleados, aún con distinto valor, condujeron a la obtención de imágenes superponibles, de modo que se puede concluir con una gran probabilidad, que las estructuras observadas no son artificios de preparación, sino que corresponden a elementos normales de la célula.

Se emplearon las siguientes mezclas fijadoras:

BOUIN-HOLLANDE (1918) ó mezcla picro-cupro-aceto-fórmica. Es el Bouin clásico enriquecido en ácido pícrico por adición de acetato neutro de cobre. Con esta modificación, HOLLANDE ha conseguido un fijador más penetrante y que determine al mismo tiempo una menor contracción del protoplasma.

Acido pícrico	4 gr.
Acetato neutro de cobre	2,5 gr.
Formol 40%	10 ml.
Acido acético crist.	1,5 ml.
Agua destilada	100 ml.

La fijación se prolongó durante tres días y luego se lavó 24 horas



con agua corriente. Este fijador conviene principalmente para coloraciones ulteriores con hematoxilina f3rrica y conserva las m3s delicadas estructuras. Con todo, determina una ligera contracci3n de las c3lulas, contracci3n manifiesta especialmente a nivel de las paredes transversales.

FLEMMING 3 mezcla romo-aceto-3smica. Hemos ensayado con buen resultado, la mezcla d3bil 3 media y la mezcla fuerte.

a) -Flemming medio:

Acido cr3mico 1%	15 partes.
Acido 3smico 2%	4 "
Acido ac3tico crist.	1 "
Agua destilada	4 3 5 partes.

b) -Flemming fuerte:

Acido cr3mico 1%	15 partes.
Acido 3smico 2%	4 "
Acido ac3tico crist.	1 "

En uno como en otro caso se fijaron trozos peque1os, pues es un fijador poco penetrante. El tiempo de fijaci3n oscil3 entre 24 y 48 horas y luego se lav3 prolijamente con agua corriente. A pesar de ser un fijador excelente para las algas azules, no lo hemos utilizado en forma sistem3tica, debido al elevado precio del 3cido 3smico.

Mezclas fijadoras a base de sublimado:

a) -Sublimado puro: es una soluci3n acuosa saturada de cloruro mercur3ico. Se ha empleado para la coloraci3n de FEULGEN'.

b) -Sublimado ac3tico:

Sol. ac. sat. de cloruro mercur3ico	95 partes.
Acido ac3tico glacial	5 "

c) -Sublimado ac3tico de FEULGEN:

Sol. ac. sat. de cloruro mercur3ico	100 partes.
Acido ac3tico glacial	2 "

Tanto el sublimado puro como el sublimado acético, son fijadores poco penetrantes, razón por la cual las piezas a fijar deber ser de tamaño reducido. Se fijó durante 12 á 24 horas como máximo, porque sino el material se torna quebradizo. El lavado debe ser muy cuidadoso y fué realizado con alcohol 50% á 70% adicionado de algunas gotas de solución iodada, que favorece la eliminación del mercurio bajo forma de ioduro de mercurio soluble. El lavado se prolonga 2 á 3 horas, cambiando varias veces el alcohol iodado.

La fijación con sublimado acético es favorable para las coloraciones con hematoxilina férrica y es la más conveniente para la reacción nuclear de FEULGEN.

Mezcla de RANDOLPH(1935) ó mezcla cromo-aceto-fórmica, designada generalmente con el nombre de Craf.

Por su composición es del tipo del NAVASHIN, BELLING y constituye un excelente fijador para el estudio de cromosomas. Favorece especialmente las coloraciones con cristal violeta, hematoxilina férrica, etc. Consta de dos soluciones que se mezclan en partes iguales en el momento de fijar el material:

Solución A:

Acido crómico anhidro	1 gr.
Acido acético glacial	7 ml.
Agua destilada	92 ml.

Solución B:

Formol neutro	30 ml.
Agua destilada	70 ml.

Se fijó durante 12 á 24 horas y el lavado se hizo con alcohol 75%, cambiándolo 3 á 4 veces, a intervalos de 15 minutos.

Este fijador nos ha dado excelentes resultados y ha sido empleado sis

tematicamente.

Vapores de ácido ósmico al 2%: se ensayó la fijación de filamentos extendidos sobre cubre-objetos con vapores de ácido ósmico al 2%, según la técnica utilizada por ROBINOW (1942) para el estudio citológico de bacterias. En el caso de las algas azules, este fijador da resultados muy inferiores a los obtenidos con cualquiera de las mezclas fijadoras anteriormente enumeradas.

### Métodos de coloración

Coloración con hematoxilina férrica de HEIMDENHAIN: según C.E. McCLUNG (1937), pg.190, "This is the finest stain available for cytological work. It is adaptable to most structures, exceeds all others in precision on chromatin-containing elements and many other parts and in general dependability and permanence far outdistances all others". Además, esta coloración permite obtener un mayor contraste entre citoplasma y estructuras nucleares.

Da resultados igualmente ventajosos después de cualquiera de los fijadores indicados.

La coloración se efectúa en tres tiempos:

a) -Mordentaje: los cortes ó películas del material ya hidratadas, se pasaron al mordiente (solución de alumbre de hierro al 4%), durante 1 hora.

Para preparar el mordiente se eligieron cristales de color violeta y la disolución de los mismos se hizo en frío. Este reactivo no se conserva durante mucho tiempo.

Finalizado el mordentaje el material se lavó con agua corriente durante

te 5 minutos y

b)-Coloración: con hematoxilina férrica al 0,5% durante 1 hora. Se preparó una solución madre del colorante al 1% y la dilución se hizo en el momento de usarla, con agua destilada. Concluida la coloración, se enjuagó con agua común y

c)-Diferenciación: en el método primitivo, la diferenciación se realiza con alumbre de hierro al 2%, 3%, 4%, siendo la decoloración tanto más rápida cuánto mayor es la concentración. Hemos empleado con éxito la modificación propuesta por H. Ch. TUAN (1930), que consiste en utilizar como diferenciador una solución acuosa saturada de ácido pírico. El proceso es lento (30 á 40 minutos) y se siguió al microscopio.

Una vez lograda la diferenciación justa, los cortes ó películas de material se lavaron prolijamente con agua corriente (30 á 40 minutos), a fin de eliminar completamente el ácido pírico, que podría determinar un empaldecimiento ulterior de la coloración. En un preparado bien diferenciado, el protoplasma queda prácticamente incoloro. Luego son pasados a alcohol 50% adicionado de unas gotas de amoníaco, que hace virar el color al azul intenso, casi negro. Se continuó la deshidratación: alcohol 70%-----90%-----100% (3 pasajes)-----Alcohol 100% más toluol-----Toluol (3 pasajes)-----montaje en bálsamo de Canadá ó en resina Dammar. No se utilizaron colorantes de fondo.

Este método nos ha permitido obtener las imágenes más netas y las estructuras mejor delimitadas.

Coloración con cristal violeta: es un colorante básico, de gran aplicación histológica y citológica como colorante nuclear. Si bien el método es más breve que el de la hematoxilina férrica, no propor-

ciona en cambio, diferenciaciones tan netas.

Se ha seguido la técnica indicada por L. LA COUR (1931). La fijación se hizo con la mezcla de RANDOLPH (Craf). Los cortes ó películas se pasaron a:

a) -Coloración: se realizó en una solución al 1% (en agua destilada) de crystal violeta, durante 10 minutos. Después de enjuagar en agua se pasó el material por:

Iodo al 1% más IK al 1% en alcohol 80%	30 á 45 segundos.
Alcohol 95%	2 segundos.
Alcohol 100%	4 "

b) -Diferenciación: se realizó con esencia de clavo, siguiendo la marcha al microscopio. Es este el paso más delicado de la técnica porque la diferenciación es sumamente rápida. Luego se pasaron a toluol (3 pasajes), dejando el material durante 15 minutos en el último baño. Esto asegure la prolija eliminación de la esencia de clavo y evita que la diferenciación continde y decolore el preparado. El montaje se hizo en bálsamo de Canadá.

Coloración con eosinatos de soda de azul y violeta de metileno: método aconsejado por Ch. A. HOLLANDE. La solución colorante fue preparada según la técnica de dicho autor (1916). El material se fijó con Craf ó con la mezcla de BOUIN-HOLLANDE. Los eosinatos se ensayaron en soluciones 1/20, 1/40, 1/60, obteniéndose el mejor resultado con la dilución 1/20 (1 gota de colorante por ml. de agua destilada). El tiempo de coloración se hizo variar de 1 á 12 horas, a la temperatura del laboratorio. Luego el material se lavó con agua destilada.

Para la deshidratación se utilizó el alcohol amílico aconsejado por HOLLANDE. Se sumergieron los cortes ó películas en dicho alcohol durante un tiempo variable y después se pasó a toluol (3 pasajes) a fin de



dratación pasando por alcohol 100%(1 á 2 minutos)-----alcohol 100% más toluol en partes iguales(2 á 3 minutos)-----Montaje directo en bálsamo de Canadá.(1).

El citoplasma queda prácticamente incoloro y el material cromático se destaca intensamente teñido en púrpura.

Coloración con orceína acética:se practicaron algunas coloraciones con orceína acética al 1%,según el método indicado por L.LA COUR (1941), a quien se debe el descubrimiento de este colorante natural. El reactivo se preparó disolviendo 1 gr. de orceína en 45 ml.de ácido acético glacial caliente;después de enfriar se añadió 55 ml.de agua destilada.Se agitó y filtró.

La coloración resultó igualmente eficaz,ya con material vivo ó previamente fijado con alcohol acético,como en el caso del carmín.

En cuanto a la técnica de la coloración,se procedió como en el caso anterior cuidando que el calentamiento no fuera excesivo.Para separar el colorante,las películas filamentosas se lavaron con ácido acético al 10%.

Se obtuvo un montaje permanente,pasando los filamentos por:

Alcohol 80%	2 minutos.
• Alcohol 100%	2 "
Toluol	2 pasajes de 5 á 10 minutos cada uno.

Montaje en bálsamo de Canadá.

Coloración con Giemsa:el material se fijó con la mezcla de BOUIN-HOLLANDE..La fijación con Craf dió resultados inferiores.

(1)En realidad el método de STEERE es solamente una modificación de la técnica indicada por B.McCLINTOCK(1929).

Se ha seguido el método indicado por C.F.ROBINOW(1942), quien obtuvo resultados satisfactorios en el estudio del aparato nuclear de bacterias, utilizando vapores de ácido ósmico al 2% como fijador y coloración con Giemsa, previa hidrólisis con HCL normal a 60°C.

Ya vimos que los vapores de ácido ósmico al 2% no constituyen un fijador apropiado para las algas azules. En cuanto a la coloración, los ensayos realizados con y sin hidrólisis condujeron a resultados superponibles.

Técnica de la coloración: las películas filamentosas ya fijadas e hidratadas, se pasaron al colorante- 1 gota de solución Giemsa por cada ml. de agua destilada fresca-, durante 1 hora a la temperatura del laboratorio. Se ensayaron diversos tiempos de coloración (hasta 12 horas), pero sin resultados ventajosos.

Después de un lavado rápido con agua destilada, la diferenciación y deshidratación del material se hizo con las siguientes mezclas de acetona y xilol:

Acetona	95 ml.	
Xilol	5 ml.	2 á 4 segundos.
Acetona	70 ml.	
Xilol	30 ml.	10 segundos.
Acetona	30 ml.	
Xilol	70 ml.	10 segundos.

Se pasó luego a xilol puro y el montaje se realizó en bálsamo neutro de Canadá.

Coloración nuclear de FEULGEN: esta técnica fué desarrollada originariamente por F.FEULGEN y H.ROSSENBECK(1924), como una reacción microquímica de alto grado de especificidad. Permite reconocer la pre-



sencia de ácido timonucleico (ácido nucleínico del timo, del esperma de los peces, de diversos tejidos animales y de muchas células vegetales), cuyo nucleoproteído constituye el principal elemento de la sustancia que en el núcleo celular se denomina oromatina. De ahí que indirectamente, esta coloración se considere como una reacción de sustancia cromática.

El fundamento del método, es que por hidrólisis con HCL normal a 60° C., se escinde el ácido timonucleico en sus elementos constitutivos: ácido fosfórico, hidratos de carbono y corpos nitrogenados de carácter básico débil (purinas y pirimidinas). Ahora bien, la presencia de determinados hidratos de carbono (d-2-desoxiribosa para el ácido timonucleico según algunos autores), conduce por hidrólisis a la liberación de grupos aldehídicos que reaccionan con la fuchsina decolorada, regenerando su color púrpura.

La técnica original, si bien seguida en sus líneas generales, ha sufrido algunas modificaciones según el material al que fuera aplicada.

En las cianofíceas, POLJANSKY y PETRUSCHEWSKY (1929), PETTER (1933), SPEARING (1937), DELAPORTE (1940) han encontrado una reacción de FEULGEN positiva localizada en el "cuerpo central" de las mismas.

Para la técnica de FEULGEN se tuvieron en cuenta los trabajos de L.A. MARGOLENA (1931-1932), J.A. DE TOMASI (1936), J.R. LUDFORD (1928), B.B. HILLARY (1939-1940) y el de H.E. WARMKE (1941), en base a los cuales hemos realizado el método que describimos a continuación.

#### 1) Reactivos para la reacción de FEULGEN:

a) Reactivo de SCHIFF ó fuchsina básica decolorada: en un Erlenmeyer se puso 1 gr. de fuchsina básica (fuchsina de Gröbler), y se

agregó 200 ml. de agua destilada hirviente, que disolvió rápidamente la fuchsina. Se dejó enfriar hasta 50°C., se filtró pasando la solución a un frasco de color caramelo, donde se conservó el reactivo al cual se añadió 20 ml. de HCL normal. Después de enfriar hasta 25°C. se agregó 1 gr. de bisulfito de sodio. Agitóse el reactivo y el frasco tapado herméticamente se mantuvo a la oscuridad durante 18 á 24 horas.

Un buen colorante debe decolorarse en este intervalo de tiempo. La solución colorante presentaba un tinte amarillento ó ligeramente rosado.

b)-Solución sulfurosa de lavado: a 200 ml. de agua destilada se añadió 10 ml. de HCL normal y 1 gr. de bisulfito de sodio. Esta solución se preparó en el momento de utilizarla.

## 2)-Técnica de la coloración de FEULGEN:

a)-Fijación: como fijador se utilizó sublimado puro, sublimado acético y sublimado acético de FEULGEN, siendo los dos últimos los más ventajosos. La fijación con Craf dió resultados inferiores. Los cortes ó películas del material, ya fijados ó hidratados, se dejaron durante la noche en alcohol 96% a fin de evitar toda reacción plasmal.

b)-Hidrólisis y coloración: los cortes ó películas se pasaron a agua destilada y luego a una solución de HCL normal frío durante 1 á 2 minutos. Después se hizo la hidrólisis en HCL normal a 60°C., en baño de agua, durante 6 á 10 minutos, tiempo conveniente para este material. Después, se enjuagaron con HCL normal frío, agua destilada y se pasó al colorante (fuchsina básica decolorada), durante 3 á 5 horas, en

la oscuridad.

En estas mismas condiciones se coloraron también epidermis de Allium cepa.

c) -Lavado y montaje: finalizada la coloración, el material se lavó con agua sulfurosa (3 baños), durante 3 á 5 minutos cada uno. Luego se enjuagó con agua destilada y se procedió a la deshidratación. Al alcohol 96% puede añadirse algún colorante de fondo, que en nuestro caso no hemos utilizado. En el alcohol 96% se pasó el material al alcohol 100%-----toluol y el montaje se hizo en bálsamo de Canadá ó en resina Dammar.

Como control de la reacción, cortes y películas de cianíficas y epidermis de Allium cepa, sin hidrólisis previa, se coloraron con la fuchsina decolorada de SCHIFF, durante 3 á 5 horas, en la oscuridad.

El citoplasma quedó incoloro y solamente el "cuerpo central" se tiñó en rojo violado no muy intenso. Los preparados de control (sin hidrólisis previa), no mostraron coloración alguna en el "cuerpo central".

La reacción es positiva. Concordamos con SPEARING (1937) en que no es suficientemente intensa como para permitir un estudio citológico detallado.

La modificación propuesta por H. E. WARMKE (1941), que consiste en lavar los cortes ó películas filamentosas ya coloradas, con agua corriente durante 10 minutos antes de pasarlos a la solución sulfurosa de lavado, nos ha permitido obtener en algunos casos un mayor contraste.

Todas las técnicas descritas fueron empleadas en el estudio citológico de Microcoleus vaginatus Gomont.

---

## Cap. IV-RESULTADOS OBTENIDOS

### Microcoleus vaginatus Gomont.

Esta especie es particularmente favorable para un estudio citológico, tanto por el tamaño de las células como por la delicada vaina que rodea los tricomas.

Los filamentos son rectos, con el ápice afinado y ligeramente curvado; el diámetro de las células oscila entre 3,7 y 5 micrones (Lámina 1). La vaina, hialina y delicada es a veces difícil de observar; cada vaina lleva un único tricoma.

Se la encuentra abundantemente sobre suelos húmedos. En cultivos en medio líquido, ó en la naturaleza, cuando el "habitat" de esta especie permanece inundado por las lluvias, los tricomas se deslizan de sus vainas y pueden confundirse fácilmente con especies del género Phormidium, como Ph. autumnale Gomont y Ph. uncinatum Gomont. A esta condición, los algólogos denominan "estado formidíoloide" de Microcoleus vaginatus (DROUET. 1943).

La reproducción se realiza por hormogonios, conjunto de células ó trozo de tricoma que se separa del filamento y reproduce un nuevo individuo. Los puntos de ruptura están representados por "discos" ó "células bi-cóncavas", que se desarrollan a intervalos variables a lo largo del tricoma.

### I-Observación "in vivo".

#### a)-Observación directa:

En la observación "in vivo" y sin coloración, se distingue en cada célula, las dos regiones descritas por BUTSCHLI: una zona cortical de color azul verdoso, homogénea y una zona central incolora, debilmente refringente y que se diferencia netamente de la región periférica. Además, en ambas partes se destacan gránulos de diversa refringencia y tamaño; a lo largo de las paredes transversales se observan granulecillas pequeñas ordenadas en hilera.

b)-Observación con colorantes:

Con Sudan III y después de 30 minutos de permanencia en el colorante, aparecen en la región cortical, diminutos corpúsculos de grasa, teñidos en rojo. Su tamaño como su número varían de célula á célula; en algunas son tan pequeñas que apenas se hacen visibles y en otras parecen faltar.

Con el reactivo de Lugol (solución de iodo-ioduro de potasio), los filamentos toman un color pardo rojizo, que indica la presencia de gli-cógeno, elemento de reserva de estas algas. La coloración aparece homogénea y no circumscripta a estructura alguna.

Con este reactivo, los tabiques transversales se destacan nítidamente. En las numerosas células en distintos estados de división, puede observarse las diferentes fases de la formación de los tabiques transversales. El tabique se inicia en un punto de la pared externa y progresa hacia el centro de la célula. Es frecuente ver células con la pared de olivaje aún incompleta, y cuyas células hijas ya presentan un esbozo del futuro tabique. Las células en división muestran una longitud mayor que las que permanecen en reposo.

Es de notar que las llamadas células bi-cóncavas, que marcan la separación de los hormogonios, no se tiñen con Lugol. Estas células que provienen de la degeneración de elementos normales, no contienen sustancias de reserva bajo forma de glicógeno ni grasas.

Con rojo neutro en solución muy diluída aparecen pequeñas granu-laciones teñidas en rojo y distribuídas por toda la región cortical de la célula. Este colorante, específico para la coloración vital del sistema vacuolar según GUILLIERMOND, permite revelar la presencia de diminutas vacuolas, cuyo número varía de célula á célula.

Con azul de metileno se destacan en el cuerpo central, granulaciones

nes de distinta forma y tamaño, coloreadas en azul intenso. Estos elementos, por su resistencia al ácido sulfúrico al 1%, solubilidad en agua hirviente y número variable en las diversas células a lo largo del filamento, nos parecen coincidir con la volutina de MEYER ó meta-cromatina de otros autores.

Por lo que antecede, la coloración "in vivo", directamente ó con colorantes, si bien permite localizar en la célula de Microcoelus vaginatus una serie de elementos (grasas, glicógeno, vacuomas, etc.), no contribuye a dilucidar la estructura del cuerpo central. Este aparece siempre como una zona de escasa refringencia y bien delimitado respecto de la zona cortical.

## II-Observación de material fijado y coloreado:

Para el estudio citológico de Microcoelus vaginatus, las fijaciones con BOUIN-HOLLANDE, sublimado acético, FLEMMING medio y fuerte, sublimado puro, Craf, etc., nos han dado resultados ventajosos.

Se utilizaron cortes de 2 ó 3 micrones de espesor, previa inclusión del material en agar ó infiltración subsiguiente con parafina. Además, películas jóvenes de filamentos se fijaron y colorearon directamente, pues en esta especie la vaina es tan tenue que no entorpece la penetración de los reactivos.

Tanto en las células jóvenes como en las adultas, se distingue un citoplasma periférico, homogéneo, y un cuerpo central, de contorno irregular, cuyo volumen es relativamente grande respecto de la zona cortical. No se observa membrana alguna que delimite dicho cuerpo central; de ahí el nombre de "núcleo abierto" propuesto por HIERONYMUS, para distinguir esta estructura del "núcleo cerrado" ó con membrana de

los organismos superiores.

Estructura del cuerpo central: las coloraciones con hematoxilina férrica proporcionan las imágenes más nítidas y las diferenciaciones más finas.

Con este método se distingue en la región central de las células de Microcoleus vaginatus, una "sustancia matrix", homogénea, que ocupa todo el volumen central, de débil afinidad por los colorantes básicos y que correspondería a la "sustancia acromática" de OLIVE, al "hialoplasma" de GUILLIERMOND, a la "sustancia básica acromática" de GARDNER, LEE, etc. En esta sustancia fundamental se encuentran los gránulos ó corpúsculos cromáticos que se tiñen intensamente en idénticas condiciones. Dichos gránulos son redondeados, ligeramente alargados ó con aspecto de barras irregulares, orientadas en el sentido del eje del filamento, según la fase del ciclo celular en que se encuentren. Estos elementos granulares se destacan nítidamente sobre el fondo homogéneo, débilmente coloreado de la "sustancia matrix".

En el hialoplasma del cuerpo central de M. vaginatus se observan dos de estos gránulos cromáticos. En las células que se dividen, al mismo tiempo que ésta se alarga, los gránulos se estiran y presentan el aspecto de dos bastones ó filamentos más ó menos paralelos (Lámina 2, fig. 1 y 2). En estados más avanzados de la división, los extremos de dichos cordones cromáticos se abultan y toman el aspecto de una palanqueta, es decir, de dos cabezuelas unidas por un delgado filamento también cromático, que cada vez se hace más fino hasta desaparecer. De esta manera, de los dos gránulos primitivos se han formado cuatro y al mismo tiempo la célula se ha dividido. (Lámina 2; Lámina 23, fig. 1-7).

La división del cuerpo central precede al olivaje celular, como ya lo observara PHILLIPS, GARDNER en Synechocystis aquatilis Sauv., LEE en



Stigonema mamillosum Ag. y SPEARING en diversas especies de cianofíceas. En el último estado se tienen dos células hijas, cada una con su hialoplasma y dos corpúsculos cromáticos, que seguirán luego el mismo proceso de división. (Lámina 2, fig. 2 y 3).

No hay indicios de formación de huso, ni fibras acromáticas ni estados espiremáticos, tales como los descritos por KHOL, OLIVE, LEE, etc.. La división es simple y corresponde a una amitosis, ó por la ordenación paralela de los bastones cromáticos, encuadraría dentro de la haplomitosis de DANGEARD(1).

Estas condensaciones cromáticas del cuerpo central de M. vaginatus, no muestran la estructura descrita por Ch. HOLLANDE para elementos granulares al parecer de este tipo, a los cuales el autor denomina nucleosomas. Aún en preparados muy diferenciados, no hemos logrado revelar en ellos estructura alguna. Son gránulos cromáticos homogéneos, con caracteres constantes en cuanto a su número (2 y 4) y ordenación (2).

Habíamos pensado que estos dos gránulos podrían derivar de la división de un único corpúsculo primitivo, pero en ningún momento pudimos encontrar en esta especie, células que mostraran un hialoplasma con una única condensación cromática.

---

(1) Haplomitosis: término creado por A.P. DANGEARD para designar un mecanismo primitivo de división nuclear, típico de algunos Protistas especialmente Euglenoideas. Consiste en la formación de filamentos cromáticos, cromospiras, que se disponen paralelamente y luego se dividen por simple partición transversal. Difiere de la amitosis típica por presentar varios bastones cromáticos y no una masa única.

(2) Estas conclusiones, sobre constancia del número de gránulos cromáticos del cuerpo central y ordenación del proceso de división a lo largo del filamento, se basan en la observación de unos 600 preparados, correspondientes a más de 50 generaciones de Microcoleus vaginatus, que fueran obtenidas por repicados sucesivos.

Las coloraciones con crystal violeta (Lámina 3), carmin acético (Lámina 4, fig. 3 y 4), orceína acética, Giemsa, eosinatos de soda de azul y violeta de metileno conducen a imágenes superponibles a las dadas por la hematoxilina férrica.

Los gránulos cromáticos descritos más arriba, dan una reacción de FEULGEN positiva (Lámina 4, fig. 1 y 2). Estos se tiñen de un tono violado rojizo poco intenso y se destacan del hialoplasma coloreado en rosado débil. El citoplasma queda incoloro. Los preparados de control (sin hidrólisis previa, ya de Microcoleus vaginatus ó de Allium cepa), no muestran coloración alguna. Esta reacción, si bien es positiva con respecto a los preparados de control, no alcanza la intensidad que presenta en los núcleos de las células superiores.

La constancia del número de los bastones cromáticos, el significado celular de los mismos y su comportamiento durante la división, han sido interpretados diversamente por los distintos autores.

KHOL, OLIVE y PHILLIPS concuerdan en llamar núcleo al cuerpo central, pero difieren en la apreciación de las estructuras observadas. Así, la división es mitótica para KHOL y OLIVE; en cambio PHILLIPS la compara con una mitosis primitiva. KHOL y PHILLIPS observan la formación de un espirema que se resuelve en segmentos cromáticos que denominan cromosomas. Para OLIVE por el contrario, cada gránulo de cromatina del espirema constituye un chromosoma, que conserva su individualidad a lo largo de todo el ciclo vital.

En cuanto al número de cromosomas, éste es constante para KHOL y OLIVE, variable para PHILLIPS. Además, OLIVE describe un huso acromático de forma variable y fibras que unen los cromosomas a las paredes transversales.

De estos tres autores, solamente OLIVE ha logrado observar una escisión longitudinal de los cromosomas, tanto en las cianofíceas monocelulares como en las formas filamentosas.

La estructura del cuerpo central de Microcoleus vaginatus concuerda en un solo punto con el esquema de KHOL: formación de segmentos cromáticos en número constante y partición transversal de los mismos. Pero, en la especie estudiada por nosotros, la división es estrictamente amitótica y no se observa espirema ni configuración alguna que pueda interpretarse como un proceso cariocinético. La estructura que OLIVE designa como huso ó figura acromática no tiene el aspecto del huso de fuerzas de las mitosis típicas. Más aún, nos parece coincidir por su forma y localización en la célula, con la sustancia "matrix" del cuerpo central ó hialoplasma de GUILLIERMOND. En cuanto a los cromosomas de OLIVE, éstos corresponderían a los gránulos cromáticos de M. vaginatus. (1).

GARDNER describe en Synechocystis aquatilis Sauv, un mecanismo de división que denomina "tipo mitótico primitivo", que aproxima a las mitosis de las clorofíceas inferiores. Es la única especie en la que el autor ha observado un filamento cromático, el cual al iniciarse la división, se resuelve en un número definido de segmentos ( 3 en el caso de Synechocystis aquatilis), que se ordenan paralelamente en el sentido longitudinal de la célula. Estos filamentos se dividen transversalmente por su parte media, sin presentar indicios de escisión longitudinal. La figura 42 (Pl. XXVI del trabajo de GARDNER) de Synechocystis

---

(1) El uso arbitrario de la terminología citológica para la descripción de los diversos elementos del cuerpo central de las cianofíceas, es posiblemente la causa principal de la confusión que resulta al comparar las observaciones de los distintos autores.

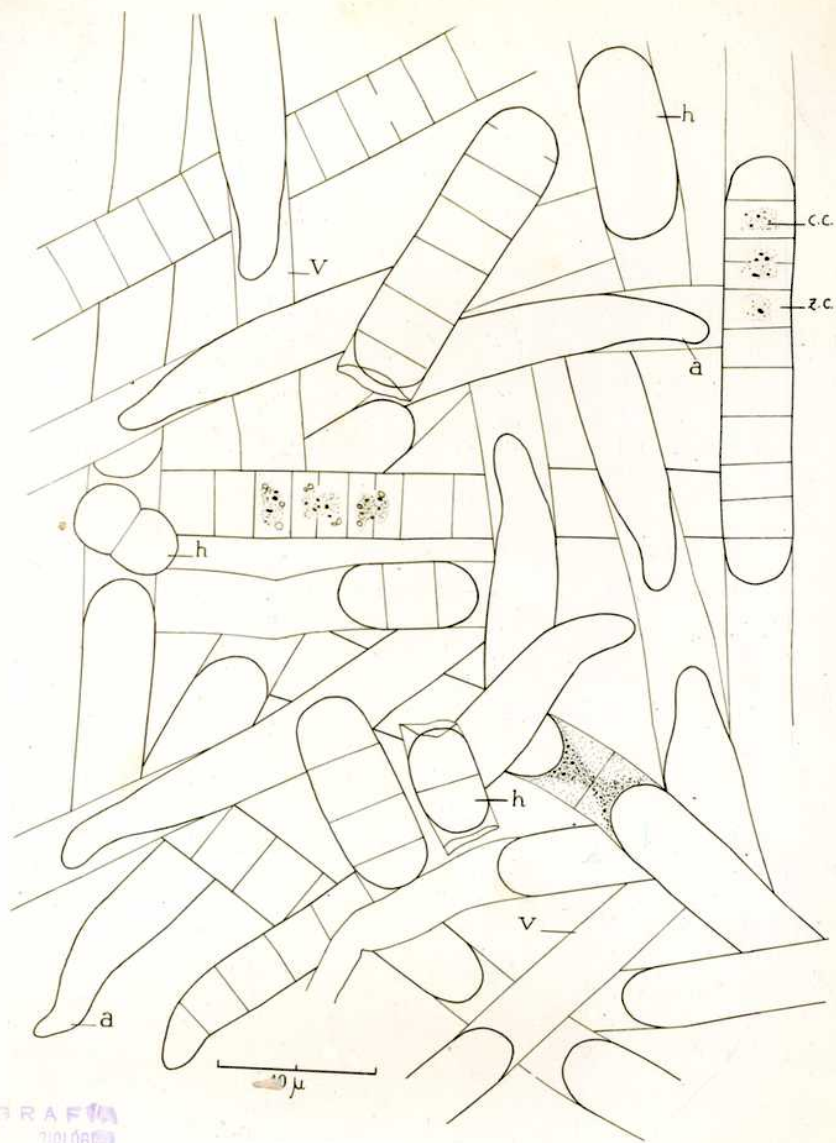
Aquatilis concuerda con el proceso de división que muestra Microcoleus vaginatus, siendo dos en nuestro caso, el número de segmentos cromáticos. Además, M. vaginatus no muestra un espirema como el que describe GARDNER.

GUILLIERMOND estudia Microcoleus ohtonoplastes (Pl. X, fig. 56-58). Describe un retículo cromático que si bien no es tan denso como en las otras especies estudiadas por este autor, no presenta semejanza alguna con la estructura de Microcoleus vaginatus.

SPEARING, en especies no identificadas del género Oscillatoria, encuentra una estructura comparable a la que hemos descrito en Microcoleus vaginatus.

En resumen, la especie de Microcoleus vaginatus Gomont estudiada por nosotros, presenta en todas sus células—con excepción de células bi-cóncavas y heterocistos—, un cuerpo central, cuya estructura se repite con notable regularidad a lo largo del filamento. Dicho cuerpo central se halla constituido por una sustancia fundamental "matrix" ó hialoplasma y gránulos cromáticos en número constante. No hay formación de huso ni hemos logrado revelar estados espiremáticos. La división es estrictamente amitótica.

---



LAMINA Nº 1

Microcoleus vaginatus Gomont.

Aspecto de los filamentos en vivo. Cultivo uni-algal.

a: ápice del tricoma; v: vaina; h: hormogonio; cc: cuerpo central; z.c.: zona cortical.

Aumento: 4300X a la cámara clara; cc.18, obj.100.

## LAMINA Nº 2

Microcoleus vaginatus Comont.

1 y 2: Material en películas.

Fijador: Craf.

Coloración: Hematoxilina férrica de Heidenhain.

3 y 4: Cortes de 2-3 micrones de espesor.

3: Corte longitudinal.

Fijador: Bouin-Hollande.

Coloración: Hematoxilina férrica de Heidenhain.

4: Cortes longitudinales y transversales.

Fijador: Sublimado acético.

Coloración: Hematoxilina férrica de Heidenhain.

Aumento:



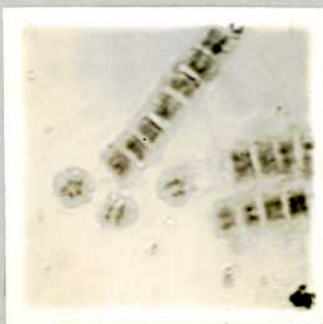
1



2

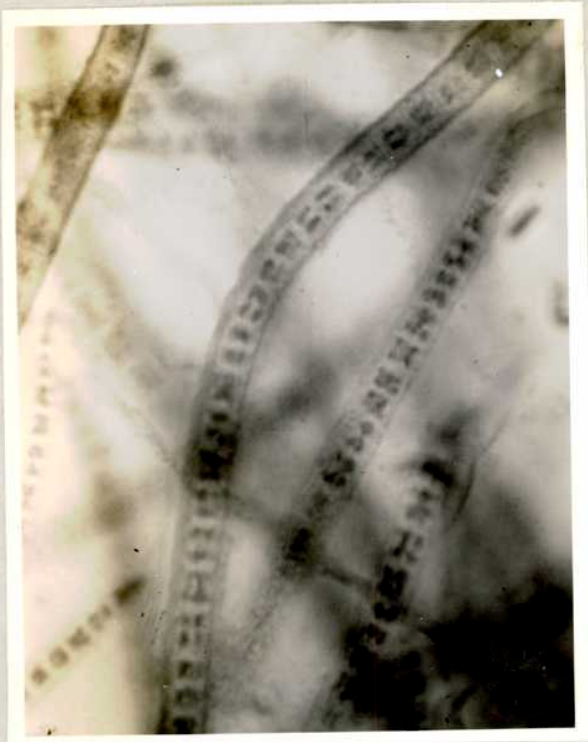


3



4

LAMINA Nº 2



1



2

## LAMINA N° 3

Microcoleus vaginatus Gomont.

Material en películas.

Fijador: Craf. Coloración: Cristal violeta.

Aumento:





1



2



3



4

## LAMINA Nº 4

Microcoleus vaginatus Gomont.

Material en pelícubas.

1 y 2: Fijador: sublimado acético. Coloración nuclear  
de Feulgen.

3 y 4: Fijación y coloración con carmin acético.

Aumento:

Phormidium autumnale Gomont.

Son filamentos rectos, con el ápice de los tricomas de forma variable y rodeado cada uno de una vaina hialina ó incolora. Esta especie es de amplia distribución y ha sido recogida en aguas dulces.

Dentro de esta especie, el estudio citológico nos ha permitido diferenciar tres formas, que difieren entre sí por caracteres morfológicos y estructurales. (1).

Forma a:

El ápice de los tricomas es redondeado y del mismo diámetro que el resto de las células. La vaina es muy delicada. El espesor de los filamentos varía entre 3,9 y 4,6 micrones. La reproducción se realiza por hormogonios. (Lámina 5).  
Los cultivos en medio líquido presentan un color verde azulado.

La estructura del cuerpo central se estudió en cortes de 2 á 3 micrones de espesor. El material se fijó con BOUIN-HOLLANDE y con la mezcla de RANDOLPH (Graf), y como única coloración se empleó la hematoxilina férrica.

En todos los preparados se observa una estructura constante: citoplasma homogéneo y cuerpo central. El cuerpo central de Ph. autumnale (forma a), muestra como el de Microcoleus vaginatus un hialoplasma de débil afinidad por los colorantes básicos y gránulos cromáticos intensamente teñidos.

---

(1) Estas tres formas, que diferenciamos citológicamente, fueron clasificadas por el Dr. Francis Drouet del "Field Museum of Natural History" de Chicago (U.S.A.), como pertenecientes a una sola especie, Phormidium autumnale Gomont.

Los gránulos se presentan en número constante, 2 en las células en "reposo" y 4 en las que se han dividido(1). (Lámina 8, fig. 1-5 y Lámina 24, fig. 1-5).

El mecanismo de la división concuerda con el ya descrito para M. vaginatus.

Las condensaciones cromáticas no muestran estructura alguna al prolongar la diferenciación; aparecen siempre como masas homogéneas.

En muchas células es muy neta la ordenación paralela de los bastones cromáticos. (Lámina 8, fig. 1 y 2).

#### Forma b:

El ápice de los tricomas es ligeramente afinado. El diámetro de las células oscila entre 4,6 y 5,5 micrones. La reproducción es homogonial. (Lámina 6).

Los cultivos en medio líquido tienen un color verde azulado.

El estudio citológico se hizo en cortes de 2 á 3 micrones de espesor y en películas. Las fijaciones con BOUIN-HOLLANDE, sublimado acético, Craf, y las coloraciones con hematoxilina férrica, crystal violeta y carmin acético conducen a imágenes superponibles.

En el hialoplasma del cuerpo central de Ph. autumnale (forma b) se destacan condensaciones cromáticas en número constante: 3 gránulos en las células "en reposo" y 6 en las que se han dividido. (Lámina 9, fig. 1-3 y Lámina 24, fig. 6-9).

El mecanismo es análogo al ya descrito: los gránulos se alargan dando tres bastones más ó menos paralelos (Lámina 9, fig. 1), que luego se

---

(1) Llamamos "células en reposo", simplemente a las que no muestran signos de división y sin que este término signifique un estado especial de la sustancia cromática.

cortan transversalmente por su parte media (Lámina 9, fig.2).

Los cortes transversales (Lámina 9, fig.4 y 5) muestran seis condensaciones cromáticas.

A cada división del cuerpo central corresponde un clivaje celular y el primer proceso precede siempre al segundo.

#### Forma c:

El ápice de los tricomas es afinado y lleva un casquete ó cofia característico, fácil de distinguir en la observación "in vivo". (Lámina 7). El diámetro de las células oscila entre 5,5 y 6,5 micrones. La vaina es delgada aunque algo más consistente que en las formas anteriores. La reproducción se realiza por hormogonios. Los cultivos en medio líquido presentan un color pardo verdoso.

La estructura citológica de esta forma coincide con la de las formas a y b. El número de gránulos cromáticos varía entre 4 y 5 á 8 y 10 en las células "en reposo" y en las divididas, respectivamente. (Lámina 24, fig.10-13). El recuento de las condensaciones cromáticas del cuerpo central se dificulta a medida que aumenta el número de las mismas; es necesario observar y realizar recuentos en una gran cantidad de células para deducir luego el número más frecuente.

Algunas células en división, con los gránulos cromáticos unidos aún por un fino "tractus", presentan un aspecto peculiar que semeja una placa ecuatorial vista desde arriba. (Lámina 24, fig.10). Sin embargo, no hemos logrado revelar trazas de huso acromático ni fibras. La división es en apariencia simplemente transversal.

Estas tres formas de Phormidium autumnale difieren por caracteres morfológicos y estructurales. Si dichas formas se ordenan en el sentido

creciente de los diámetros, es curioso observar que, á medida que aumenta el espesor, aumenta el número de granulaciones cromáticas del cuerpo central.

Junto a esto aparecen algunas modificaciones de carácter morfológico, que se consignan en el cuadro que sigue.

Phormidium autumnale Gomont.

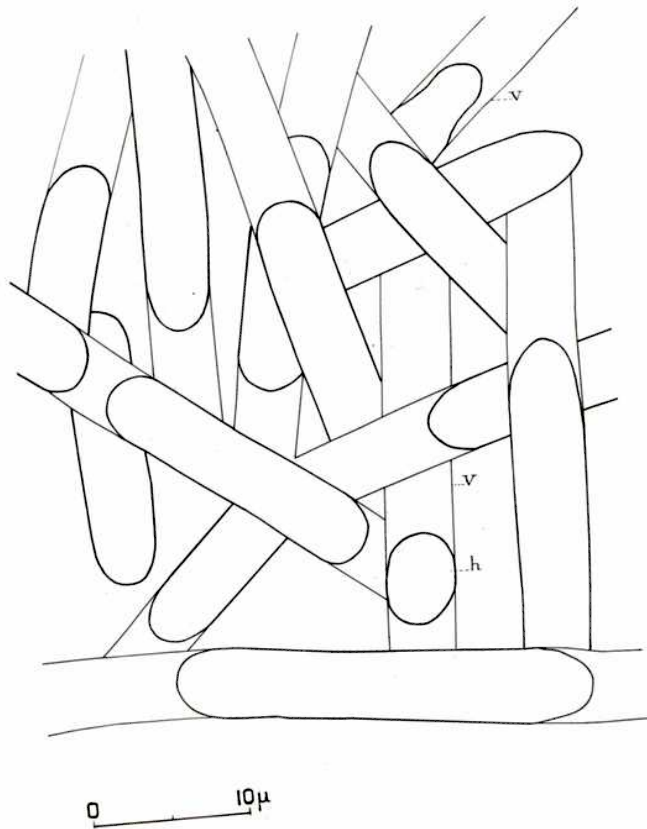
Forma	Diámetro (micrones)	Forma del -apice	Color del cultivo en medio líquido.	Número de gránulos cromáticos.
a	3,9-4,6	Redondeado	Verde azulado	2 y 4
b	4,6-5,5	Afinado	" "	3 y 6
c	5,5-6,5	Casquete	Pardo verdoso.	4 á 5 y 8 á 10.

Si bien la relación entre el número de granulaciones cromáticas del cuerpo central y ciertos aspectos morfológicos en las tres formas de Ph. autumnale, podría sugerirnos alguna analogía con los casos de poliploidía en las plantas superiores, la ausencia de procesos mitóticos definidos en las cianofíceas invalida toda consideración de estados haploides y poliploides en las mismas.

En resumen, Phormidium autumnale Gomont muestra un cuerpo central constituido por gránulos cromáticos en número constante para cada una de las formas consideradas. El estudio de numerosos preparados, obtenidos de material recientemente recolectado ó de cultivos replica-

de periodicamente, examinado en diferentes épocas del año, fijado y colorado según diversos métodos citológicos, no nos ha permitido revelar el ovillo cromático descrito por GUILLIERMOEL (1933) en esta misma especie ni las estructuras observadas por HOLLANDE (1932, 1933) en Phormidium uncinatum Gomont.

---



FOTOGRAFIA  
INSTITUTO BACTERIOLÓGICO  
"Dr. CARLOS G. MALBRÁN"

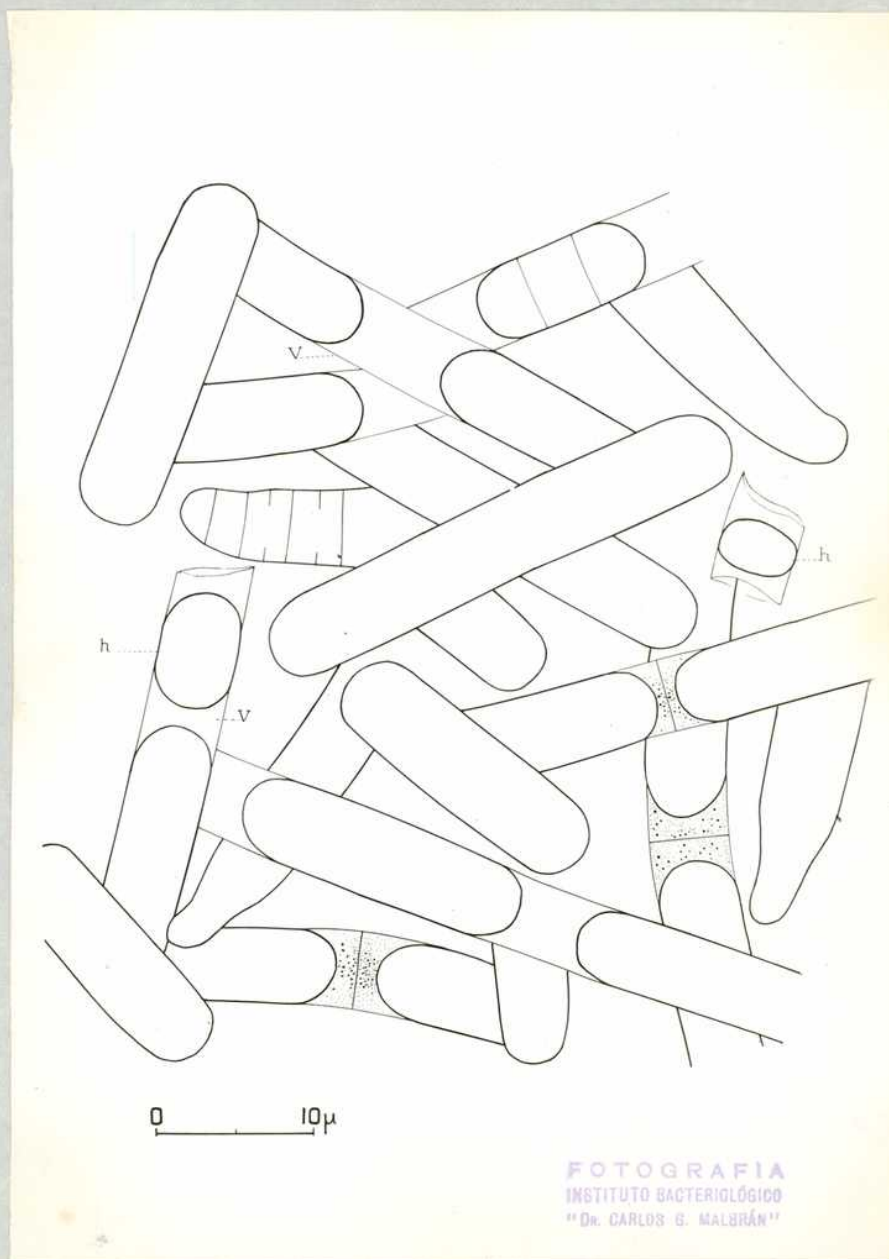
LAMINA Nº 5

Phormidium autumnale Gomont. (Forma a).

Aspecto de los filamentos en vivo. Cultivo uni-algal.

h: hormogonio; y: vaina.

Aumento: 4300X a la cámara clara. Oc. 18; obj. 100.



## LAMINA Nº 6

Phormidium autumnale Gomont. (Forma b).

Aspecto de los filamentos en vivo. Cultivo uni-algal.

v: vaina; h: hormogonio.

Aumento: 4300X a la cámara clara. Oc. 18; Obj. 100.



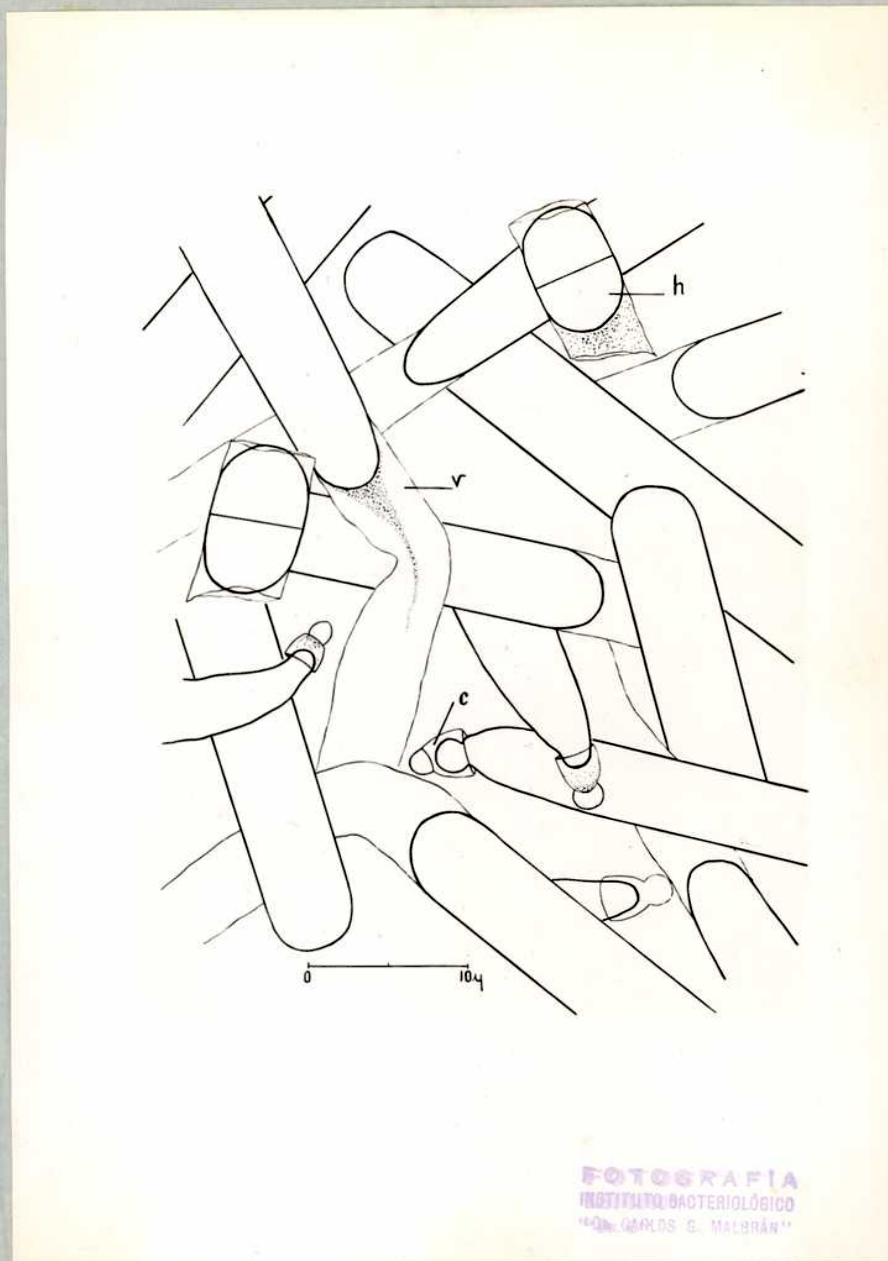


Lámina N<sup>o</sup> 7

Phormidium autumnale Gomont. (Forma c).

Aspecto de los filamentos en vivo. Cultivo uni-algal.

h: hormogonio; v: vaina con restos de células degeneradas.

c: cofia o casquete que recubre la célula apical.

Aumento: 4300X a la cámara clara. Oc. 18; Obj. 100.

## LAMINA Nº 8

Phormidium autumnalè Gomont. (Forma a).

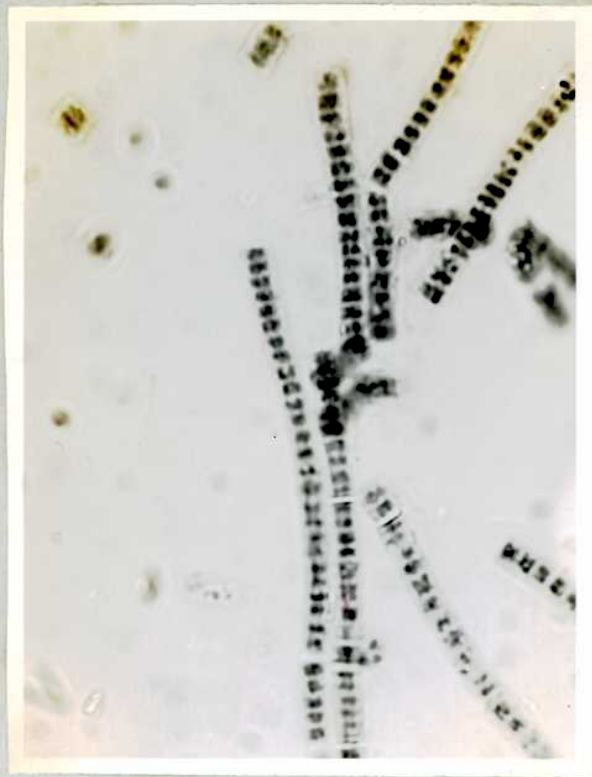
Cortes de 2 á 3 micrones de espesor.

Fijador: sublimado acético.

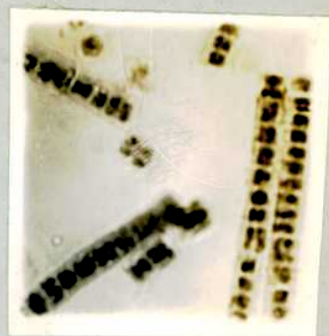
Coloración: hematoxilina férrica de Heindenhein.

Fig.1-5: cortes longitudinales que muestran los distintos estados de la división del cuerpo central.

Aumento:



1



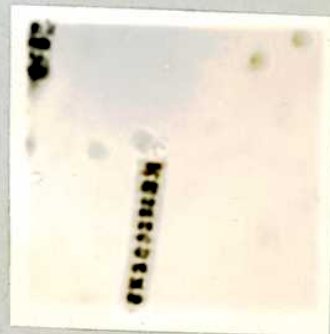
2



3



5



4

## LAMINA Nº 9

Phormidium autumnale Gomont. (Forma b).

Cortes de 2 á 3 micrones de espesor.

Fig.1 y 2: Cortes longitudinales.

Fijador: sublimado acético.

Coloración: hematoxilina férrica de Heidenhain.

Fig.3-5. Fijador: mezcla de RANDOLPH(Craf).

Coloración: hematoxilina férrica de Heidenhain.

Fig.3: corte longitudinal; fig.4 y 5: cortes transversales.

Aumento:

Oscillatoria Grunowiana Gomont.

Son filamentos ondulados, con el ápice de los tricomas redondeado y del mismo diámetro que el resto de las células. (Lámina 10 y 11). La vaina es sumamente tenue y a veces difícil de observar. Vainas efímeras de este tipo se producen frecuentemente en especies de Oscillatoria cultivadas en medio líquido. La reproducción se realiza por hormogonios.

En esta especie como en Phormidium autumnale Gomont distinguimos dos formas que difieren en el número de granulaciones cromáticas del cuerpo central y también en el espesor de los filamentos.

Forma a:

El diámetro de las células oscila entre 3 y 4,2 micrones. (Lámina 10).

Todos los preparados del material fijado y teñido según los métodos ya indicados, muestran una estructura comparable a la descrita para Microcoleus vaginatus y Phormidium autumnale: hialoplasma debilmente cromático y condensaciones que se coloran intensamente con los colorantes nucleares.

El número de los gránulos cromáticos del cuerpo central se mantiene constante: 2 y 4, en las células "en reposo" y en las ya divididas, respectivamente. El proceso se repite regularmente a lo largo del filamento. (Lámina 12, fig. 1-5; Lámina 23, fig. 8-9 y 11).

Forma b:

El diámetro de las células oscila entre 5 y 6 micrones. (Lámina 11). En cuanto a la forma de los ápices y color del cultivo, concuerdan con los de la forma a.

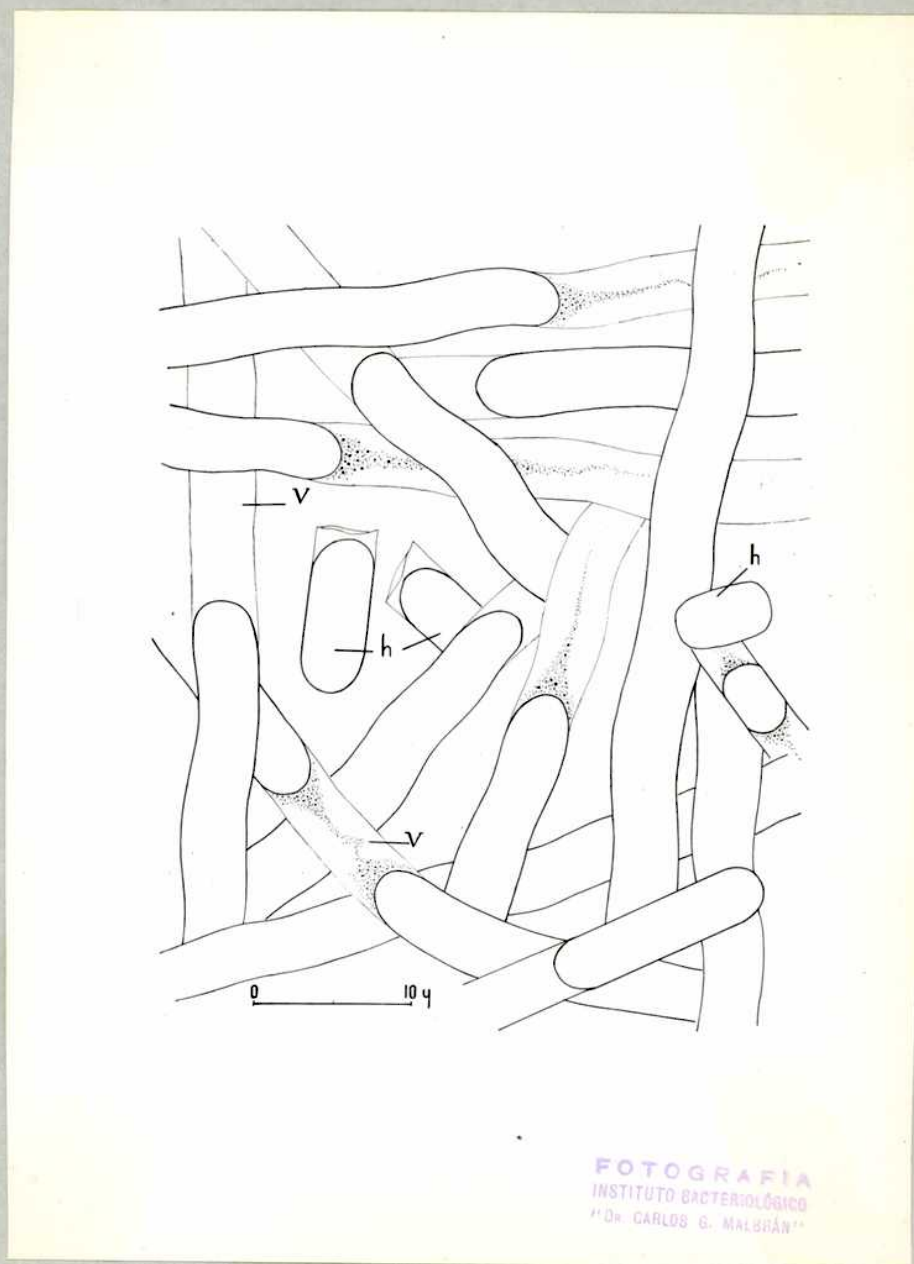
La estructura citológica del cuerpo central revela una diferenciación granular en número constante: 3 y 6 corpúsculos cromáticos. (Lámina 23, fig. 10, 12 y 13).

Tanto en la forma a como en la forma b, hemos observado en algunas células, un único gránulo central denso, homogéneo, fuertemente coloreado, comparable al descrito por LEE(1927) en Stigonema mamillosum, y que según este autor correspondería a estados de reposo. Sin embargo, no hemos logrado observar los cambios que deberían producirse al pasar la célula del estado de reposo al de división. No nos ha sido posible diferenciar estructura alguna que nos permita relacionar este único corpúsculo central con los dos gránulos cromáticos que muestran las células sin indicios de división. (Lámina 12, fig. 4; Lámina 13; Lámina 23, fig. 11).

Resumiendo, en Oscillatoria Grunowiana Gomont, observamos un cuerpo central constituido por gránulos cromáticos bien definidos y en número constante.

Como en Phormidium autumnale Gomont, podemos distinguir dos formas, en las cuales existiría una relación entre el número de condensaciones cromáticas del cuerpo central y el espesor del filamento.

---



## LAMINA Nº 10

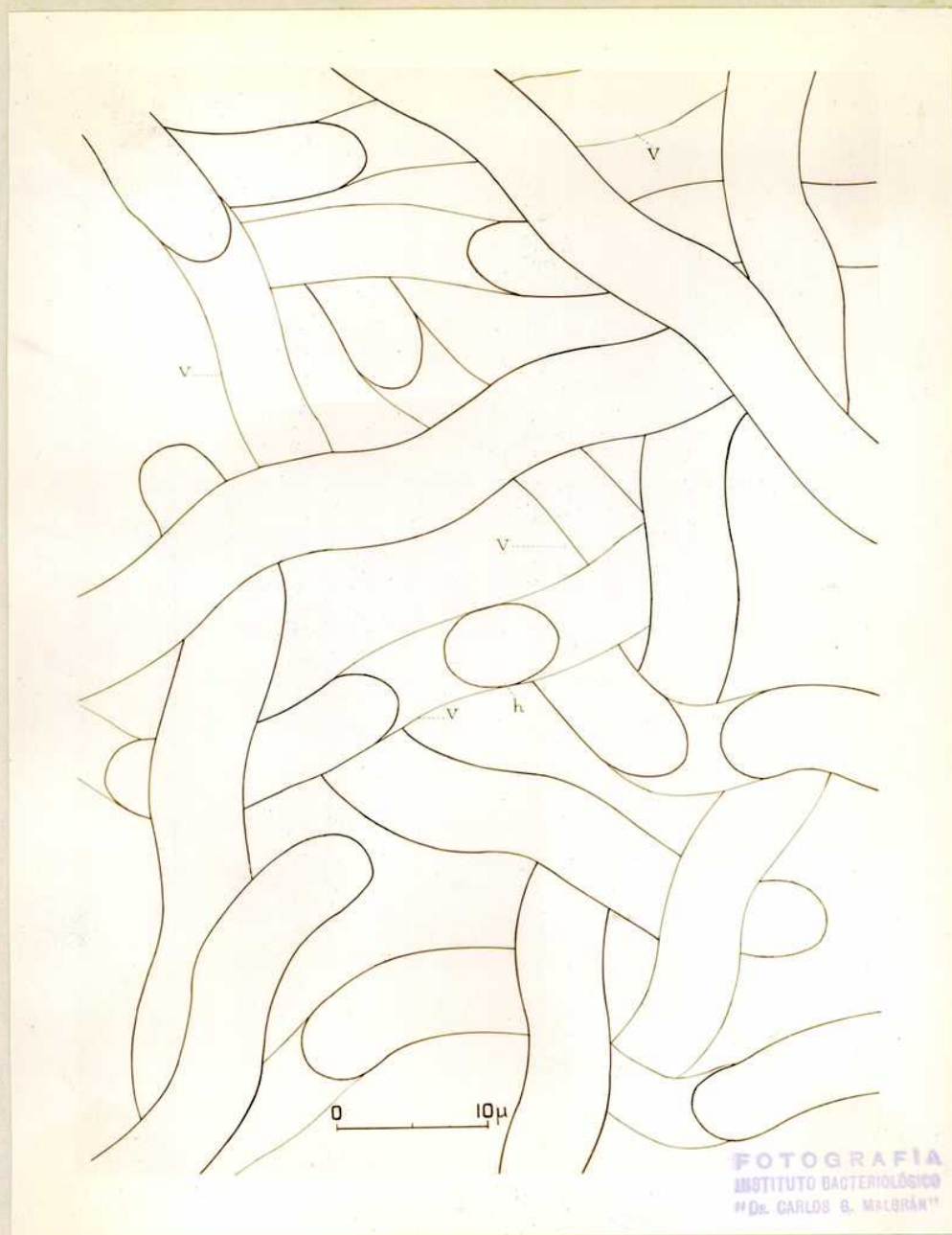
Oscillatoria Grunowiana Gomont. (Forma a).

Aspecto de los filamentos en vivo. Cultivo uni-algal.

v: vaina muy ténue con restos de células degeneradas.

h: hormogonios.

Aumento: 4300X a la cámara clara. Oc. 18; Obj. 100.



LAMINA Nº 11

Oscillatoria Grunowiana Goment. (Forma b).

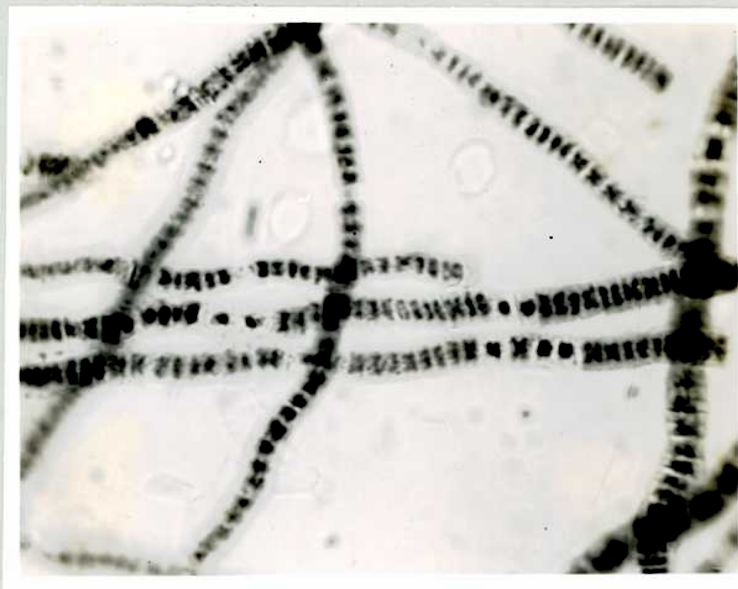
Aspecto de los filamentos en vivo. Cultivo uni-algal.

v: vaina.

h: hormogonio.

Aumento: 4300X a la cámara clara. Oc. 18; Obj. 100.





## LAMINA Nº 13

Oscillatoria Grunowiana Gomont. (Forma b).

Material en películas.

Fijador: mezcla de RANDOLPH (Craf).

Coloración: hematoxilina férrica de Heindenhein.

En algunas células se destaca nitidamente un corpúsculo central, intensamente teñido.

Aumento:

Oscillatoria animalis Gomont.

Son filamentos delgados con el ápice de los tricomas afinado y ligeramente curvado. Vaina muy ténue, efímera, que sólo se desarrolla en cultivos en medio líquido como en el caso de O. Grunowiana Gomont. El diámetro de las células oscila entre 3,4 y 3,9 micrones. La reproducción se realiza por hormogonios. (Lámina 14).

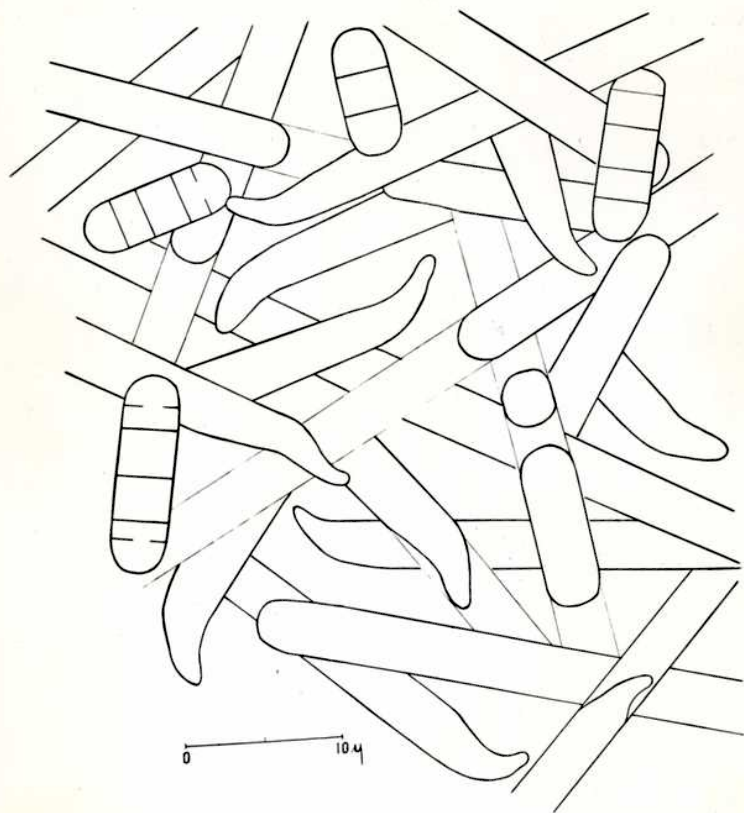
El material fijado con la mezcla de RANDOLPH (Craf) y coloreado con hematoxilina férrica, muestra una estructura comparable a la descrita para las especies ya estudiadas. En la fig. 1 (Lámina 15) se destaca una célula con dos bastones cromáticos paralelos, bien definidos, que se extienden de una pared transversal a otra de la célula. En la misma lámina, fig. 2, se distingue un estado más avanzado de la división, en el cual los filamentos cromáticos se adelgazan en su parte media, hasta cortarse dando 4 gránulos. Al mismo tiempo se produce el clivaje celular que conduce finalmente a dos células hijas con 2 gránulos cromáticos cada una.

Si bien GARDNER ha estudiado esta misma especie, la incluye junto con otras Oscillatoriaceae en el "Tipo difuso", caracterizado por presentar la sustancia cromática distribuída irregularmente en forma de masas filamentosas, ramificadas, reticuladas ó como gránulos angulosos de diverso tamaño. Sólo en una especie de este mismo género, Oscillatoria Okeni Agardh (Pl. XXII, fig. 10, GARDNER), encuentra un núcleo que ocupa casi todo el largo de la célula, con la sustancia cromática que tiende a disponerse en el sentido longitudinal del filamento.

SPEARING estudia algunas especies del género Oscillatoria, en las que encuentra distintos tipos de aparato cromático: en O. tenuis Agardh logra identificar un cuerpo central complicado, formado por u-

na maraña de filamentos que se dividen por estrangulación; y en Oscillatoria splendida Grev. encuentra un cuerpo central bien delimitado, que parece mostrar una membrana nuclear. En ambas especies la división es por constricción. En cambio, en especies no determinadas de Oscillatoria, SPEARING halla una estructura peculiar: bastones cromáticos que se extienden de un extremo a  $\frac{1}{2}$  de la célula, ordenados longitudinalmente, intensamente teñidos y cuyo número no es absolutamente constante. Al dividirse se cortan por su parte media, sin presentar el estiramiento gradual que se observa en las especies que nosotros hemos estudiado. Las fig. 38-49 (Pl. XIII) del trabajo de SPEARING son comparables a las de Oscillatoria animalis observada por nosotros, y el autor admite que si bien el número de bastones cromáticos no es estrictamente constante, oscila entre 5 y 7.

---



FOTOGRAFIA  
INSTITUTO BACTERIOLÓGICO  
"DR. CARLOS G. MALBRÁN"

LAMINA Nº 14

Oscillatoria animalis Gomont.

Aspecto de los filamentos en vivo. Cultivo uni-algal.  
Vainas muy ténues y efímeras. Apice de los tricomas  
afinado. Hormogonios.

Aumento: 4300X a la cámara clara. Oc. 18; Obj. 100.



1



2

## LAMINA Nº 15

Oscillatoria animalis Gomont.

Fig. 1 y 2: Material en películas.

Fijador: Mezcla de RANDOLPH (Craf).

Coloración: Hematoxilina férrica de Heindenhein.

Aumento:

Lyngbya Giuseppei Drouet.

Filamentos rectos, con el ápice de los tricomas redondeado y del mismo diámetro que el resto de las células. La vaina es firme, delgada y cada una rodea un único tricoma, formado por células discoiales. El espesor de los filamentos oscila entre 8 y 9,5 micrones (Lámina 16). Reproducción hormogonial. Los hormogonios jóvenes, cuando abandonan la vaina parental aparecen desnudos (Lámina 16), como en el caso de Microcoleus vaginatus.

En la observación "in vivo" y sin coloración se nota que el cuerpo central ocupa un gran volumen; se extiende casi de una pared transversal a otra, dejando lateralmente una estrecha zona cortical citoplasmática, homogénea y de color verde azulado.

Con hematoxilina férrica, Lyngbya Giuseppei muestra la estructura ya descrita para las otras especies estudiadas: un cuerpo central formado por una sustancia "matrix", de débil afinidad por los colorantes básicos y gránulos cromáticos fuertemente teñidos.

El número de condensaciones cromáticas es constante: 3 para las células "en reposo" y 6 para las ya divididas. (Lámina 17; y Lámina 25, fig. 12).

El mecanismo de la división coincide con el de Microcoleus vaginatus.

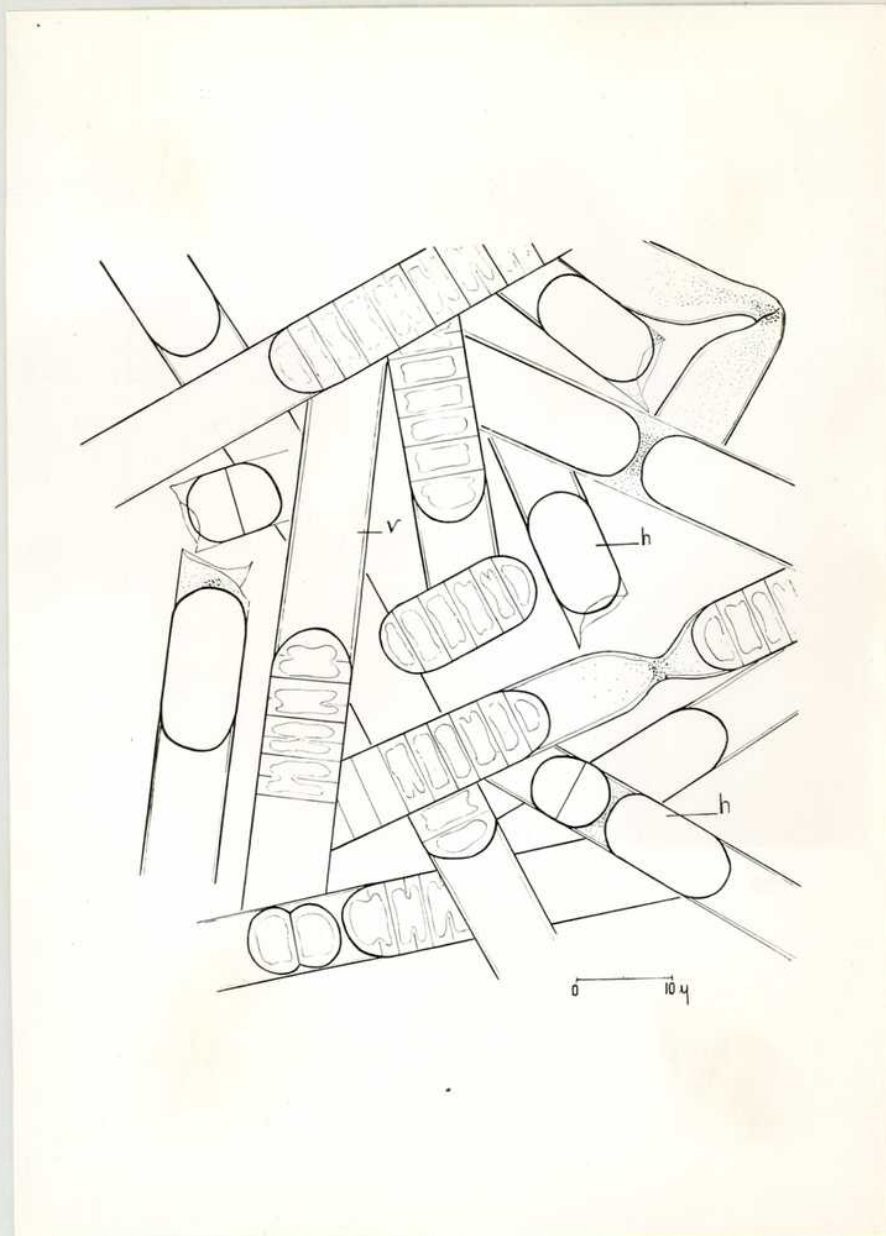
GUILLIERMOND (1906) en dos especies del género Lyngbya (L. astuari Liebman y L. semiplena Agardh), describe una red cromática más ó menos complicada que se divide por simple estrangulación. No puede establecerse analogía alguna entre sus figuras y la estructura granular constante que muestra Lyngbya Giuseppei.

GARDNER (1906) estudia dos especies de Lyngbya a las que incluye en el "tipo difuso". La fig. 38 (Pl. XXVI) de este autor, representa un aspecto longitudinal de Lyngbya Lagerheimii; cada célula de esta especie lleva un cuerpo central formada por una masa única de cromatina y un alfa gránulo. La estructura descrita por GARDNER en las dos especies citadas de Lyngbya, no concuerda con la de Lyngbya Giuseppei.

BROWN(1911) estudia el mecanismo de la división en una especie no identificada del género Lyngbya. El cuerpo central ó núcleo para este autor, está formado por una red de finas fibras a lo largo de las cuales se observan pequeñas granulaciones. Durante la división, BROWN logra revelar la presencia de fibras que semejan un huso acromático comparable al ya descrito por OLIVE en Oscillatoria.

Lyngbya Giuseppei muestra una estructura granular del todo diferente a la encontrada por BROWN. Además, ya hemos visto que el huso acromático de OLIVE corresponde a la sustancia acromática ó "matrix" de las cianofíceas que nosotros hemos estudiado.

---



LAMINA Nº 16

Lyngbya Giuseppei Drouet.

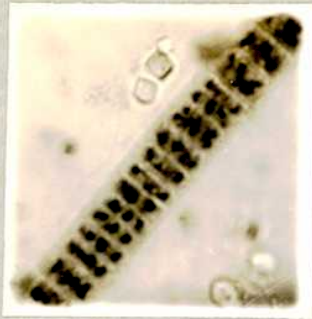
Aspecto de los filamentos "in vivo". Cultivo uni-algal.

v: vaina.

h: hormogonio.

Aumento: 4000X a la cámara clara. Oc.15; obj.100.





1



2

## LAMINA Nº 17

Lyngbya Giuseppii Drouet.

Material en películas.

Fijador: Craf.

Coloración: hematoxilina férrica.

Aumento:

Plectonema purpureum Gomont.

Son filamentos delgados con una vaina bien definida. Tricomas formados por células cilíndricas que presentan constricciones a la altura de los tabiques transversales. (Lámina 18). El diámetro de las células oscila entre 2 y 2,6 micrones; los ápices de los filamentos son ligeramente afinados. La reproducción se realiza por hormogonios, los cuales permanecen durante largo tiempo dentro de la vaina parental. Carecen de heterocistos. Presentan falsas ramificaciones, que resultan del crecimiento hacia afuera de los hormogonios formados dentro de la vaina primitiva, según las observaciones de Y. BHARADWAJA (1933).

En la observación "in vivo", el cuerpo central aparece incoloro y ocupa la mayor parte de la célula.

En preparados fijados con Craf y teñidos con hematoxilina férrica, se observa en cada célula una condensación cromática homogénea. Algunas muestran un único corpúsculo denso, fuertemente cromático, que se asemeja a un núcleo verdadero y en el cual no ha sido posible diferenciar estructura alguna. En las células en vías de división, este gránulo se alarga y constituye un bastón cromático que se extiende de un extremo a otro de la célula (Lámina 19, fig. 1). A medida que avanza el proceso de la división, el filamento cromático se afina en su parte media y por último se estrangula dando dos gránulos hijos, (Lámina 19, fig. 1). Al mismo tiempo se realiza el olivaje celular. (Lámina 25, fig. 2-3).

La división corresponde aparentemente a una amitosis típica: partición de una masa cromática en dos, por simple estrangulación.

Plectonema Nostocorum Gomont.

En cultivos de Lynghya Giuseppei, hemos encontrado otra especie

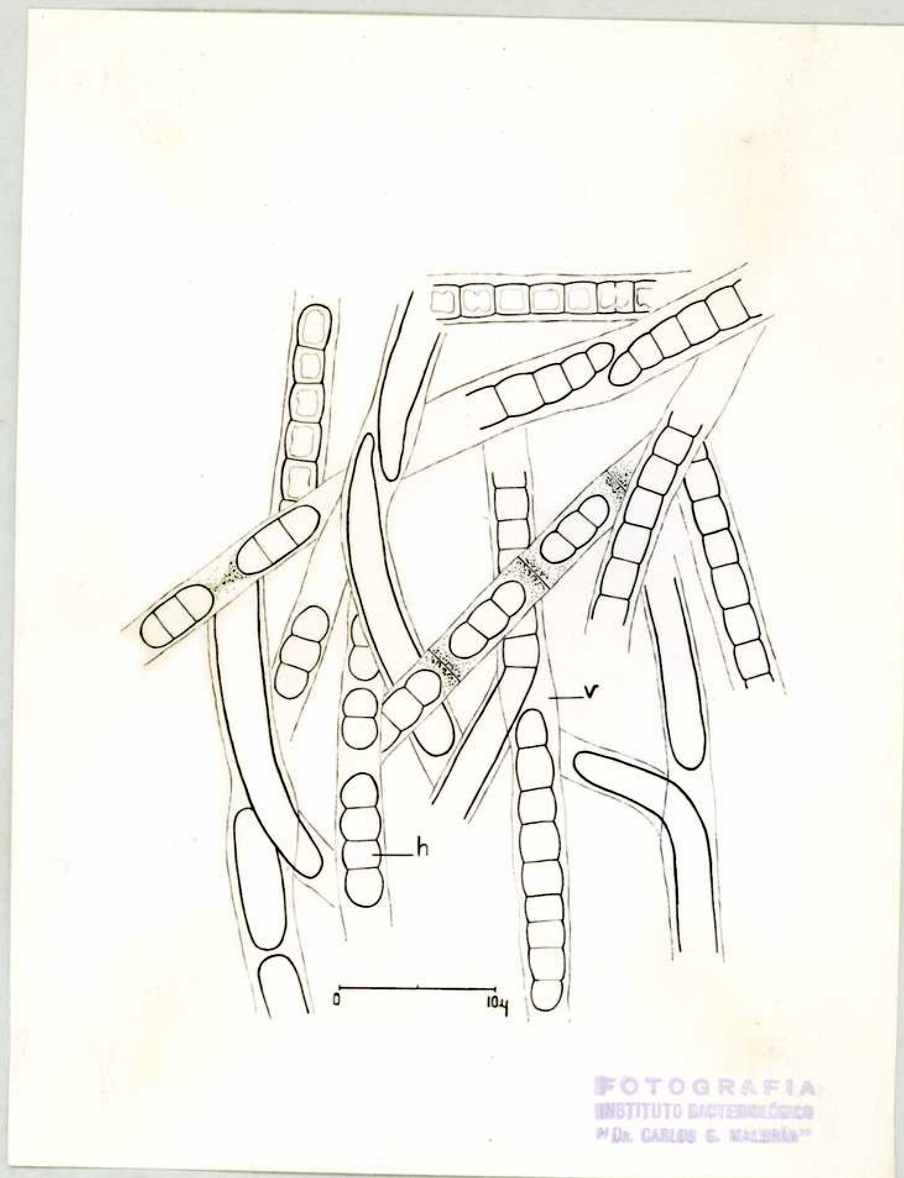
del género Plectonema, Plectonema Nostocorum Gomont.

Son filamentos muy delgados, de 0,8 á 1 micrón de espesor, formados por células cilíndricas con estrechamientos a nivel de las paredes transversales. Vainas delgadas y firmes. No hay heterocistos. Los filamentos muestran falsas ramificaciones como Pl. purpureum.

En la observación "in vivo" y sin coloración, el cuerpo central aparece de débil refringencia y ocupa la mayor parte de la célula. La zona cortical, de color verde homogéneo es muy estrecha.

En preparados coloreados con hematoxilina férrica, se observa en el cuerpo central un bastón cromático que muestra durante la división estados análogos a los descritos para Plectonema purpureum. (Lámina 19, fig. 2) y (Lámina 25, fig. 4-5).

---



LAMINA Nº 18

Plectonema purpureum Gomont.

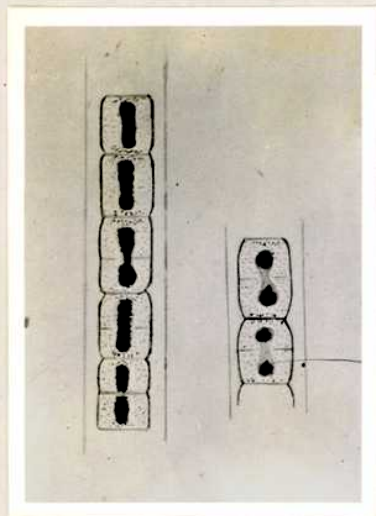
Aspecto de los filamentos "in vivo". Cultivo uni-algal.

v; vaina.

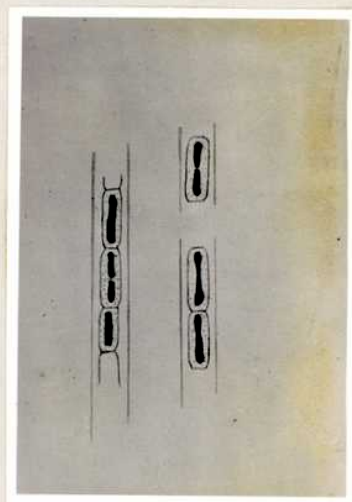
h: hormogonios.

Los filamentos muestran falsas ramificaciones.

Aumento: 4300X a la cámara clara. Oc. 18x; obj. 100.



1



2

## LAMINA Nº 19

Fig.1: Plectonema purpureum Gomont.

Fig.2: Plectonema Nostocorum Gomont.

Diversos estados de la división del cuerpo central.

Material en películas, fijado con Craf y coloreado con hema-  
toxilina férrica.

Aumento: 4300X a la cámara clara. Oc. 18x; obj. 100.

Calothrix parietina Born. & Flah.

Esta especie ha sido encontrada en aguas dulces, fijada sobre restos vegetales sumergidos. Los filamentos se orientan radialmente, desde el punto de contacto con el soporte y forman colonias de tamaño macroscópico que semejan pequeñas bolas. La porción periférica está formada por los tricomas jóvenes en crecimiento; en cambio, en la parte basal, los filamentos viejos que la integran, están en reposo funcional ó en vías de degeneración.

A la observación microscópica, los filamentos aparecen afinados desde la base hacia el ápice (Heterocisto basal) ó desde la parte media hacia ambos extremos (heterocistos intercalares); con todo es más frecuente el heterocisto basal. Los filamentos presentan una vaina bien definida que rodea cada tricoma, el cual en muchos casos termina en un pelo, formado por células de contenido desintegrado.

Las células vegetativas de la base del tricoma son discoidales y con un diámetro que oscila entre 7,5 y 9 micrones. A medida que se progresa hacia el ápice, las células se hacen alargadas, cilíndricas y la célula apical tiene de 3,8 á 5 micrones de espesor (Lámina 20).

En algunos filamentos, junto al heterocisto basal, es fácil distinguir un "akineto" ó espora, que se diferencia del resto de las células vegetativas por su mayor tamaño (9,5 micrones de diámetro en un tricoma cuyas células basales muestran un espesor de 8,3 micrones). Además, sus paredes celulares son espesas y el contenido protoplasmático aparece densamente granular.

En cultivos en tierra estéril es dable observar los diversos estados del desarrollo de Calothrix parietina. Algunas veces, los individuos separados precozmente de la vaina parental, aparecen desnudos ó con una vaina muy tenue, difícil de diferenciar. Pero en la mayoría de los casos, los hormogonios se observan incluidos dentro de la vaina primitiva.

Reproducción hormogonial. Las esporas ó "akinetos" representan elementos de resistencia que permiten a la especie soportar las condiciones desfavorables. Las vainas firmes y bien definidas tienden a espesarse con la edad del filamento.

En preparados fijados con la mezcla de RANDOLPH (Craf) y teñidos con hematoxilina férrica de Heidenhain, se observa una estructura celular que varía desde la base hacia el ápice:

1?) - El heterocisto basal no aparece como una célula hueca, sino

que muestra una especie de red que se colora con hematoxilina férrica.

2?)-Las células de la base del tricoma presentan una estructura muy alterada, con restos de algo parecido a un retículo. La zona cortical ó citoplasma periférico aparece vacuolizado y de aspecto granular.

3?)-En las células siguientes ya se observan estados de reproducción que se repiten con frecuencia. El cuerpo central, formado por una sustancia "matrix" ó hialoplasma y gránulos de cromatina, ocupa un gran volúmen, siendo homogénea la región cortical. La delimitación entre cuerpo central y citoplasma periférico es bien marcada, aunque no puede definirse la existencia de una membrana. Las células son alargadas (6 micrones de largo por 3,5 á 4,5 micrones de diámetro) y el cuerpo central presenta una estructura comparable a la de las otras especies estudiadas.

A lo largo del tricoma, se observa en numerosas células los distintos estados del proceso de división del cuerpo central. En la Lámina 21, fig. 1 y 3, pueden verse células con dos bastones cromáticos más ó menos paralelos, que se extienden de una pared transversal a otra de la célula. En un estado más avanzado, los filamentos cromáticos se afinan en su parte media (Lámina 21, fig. 3) y finalmente por partición transversal, dan cuatro gránulos (Lámina 22, fig. 2).

No hemos logrado revelar estados de reposo comparables a los descritos en Oscillatoria Grunowiana Gomont.

OLIVE (1905) estudia Calothrix thermalis Hang., en la que describe un espirema constituido por un número definido de gránulos, (16), dis-

puestos a lo largo de un filamento de linina. Sin embargo, la fig. 39 (pl. II) del trabajo de este autor, representa un corte longitudinal de Calothrix thermalis, en cuyas células apicales se observa claramente 4 gránulos cromáticos unidos por un "tractus" de sustancia acromática tal como lo hemos descripto para Calothrix parietina.

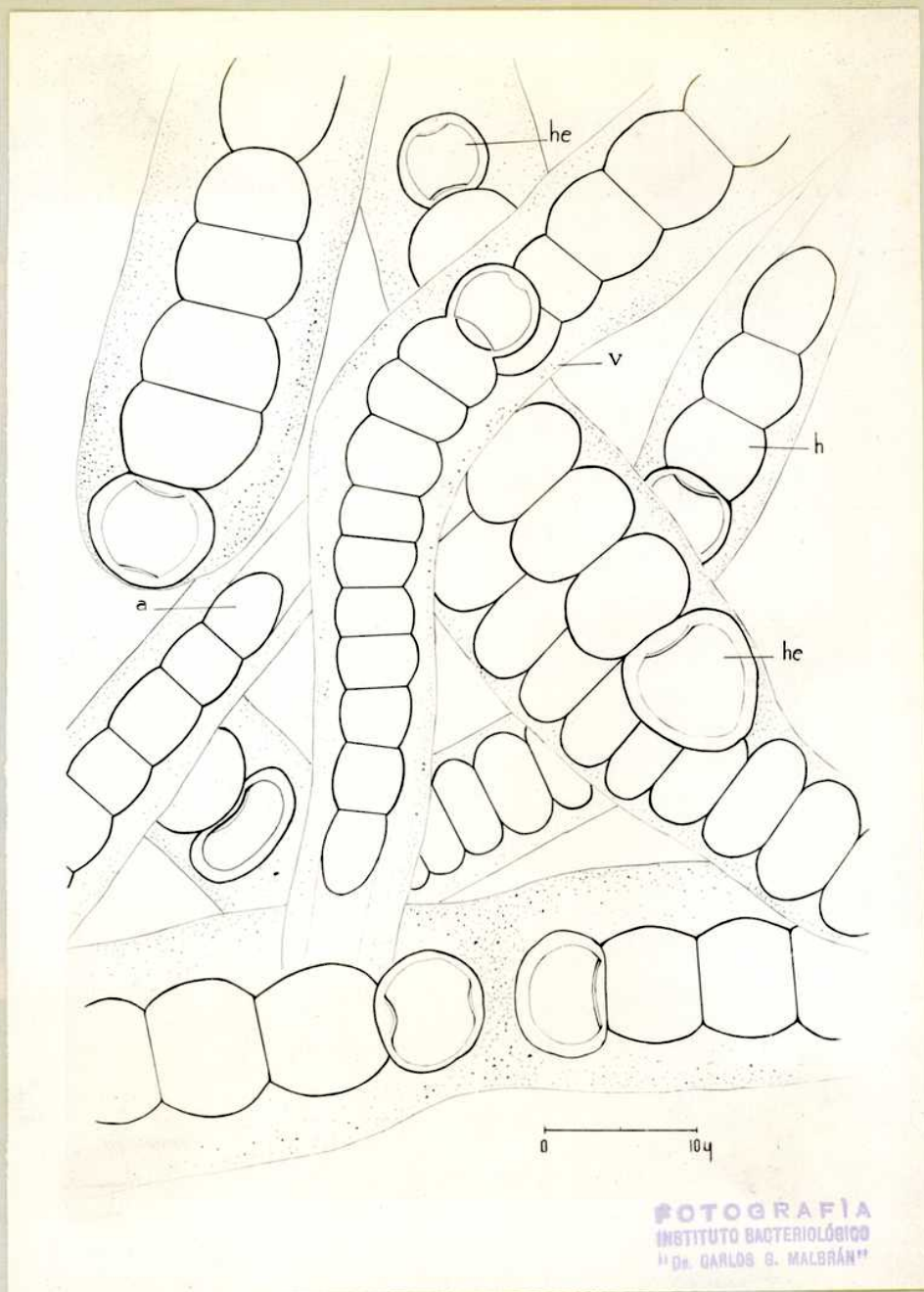
GARDNER (1906) estudia dos especies del género Calothrix, Calothrix parietina (Nägeli) Thuret y Calothrix crustacea Thuret, a las que incluye en el "tipo difuso", en el cual la distribución de la sustancia cromática no es comparable con la estructura granular que muestra Calothrix parietina Born. & Flah.

GUILLIERMOND (1906) estudia C. pulvinata y C. crustacea Thuret. En las células basales de estas especies observa que el citoplasma periférico aparece muy vacuolizado; el cuerpo central es de tamaño reducido y el retículo cromático se contrae hasta adquirir el aspecto de una banda estrecha que atraviesa la célula según su eje mayor. En algunas células basales el retículo cromático se condensa en un gránulo esférico, homogéneo, a veces de aspecto esponjoso, adosado a la membrana y semejante a un núcleo verdadero. Las células basales aún con esta estructura reducida, pueden ocasionalmente dividirse; en células viejas, GUILLIERMOND ha observado un filamento axial con los extremos abultados en forma de masas nucleiformes y a continuación, células muy cortas, cada una con un solo gránulo cromático. Y el autor supone que estos gránulos precisamente provienen de la división del filamento axial, por un proceso amitótico. En el resto de las células vegetativas GUILLIERMOND encuentra un cuerpo central formado por un ovillo de filamentos cromáticos, que durante la división se estrangula por su parte media. (Pl. X-XI, fig. 51-55, GUILLIERMOND).



La estructura descrita por GUILLIERMOND no coincide con la observada por nosotros en Calothrix parietina. En esta especie, en las células jóvenes, observamos con notable regularidad un cuerpo central con dos bastones cromáticos bien definidos (Lámina 25, fig. 6-11), en nada comparables al ovillo espiremático descrito por GUILLIERMOND en C. pulvinata y C. crustacea. Solamente en las células basales de los tricomas de C. parietina, es dable encontrar figuras irregulares, que con todo no pueden compararse con la banda axial de GUILLIERMOND.

---



## LAMINA Nº 20

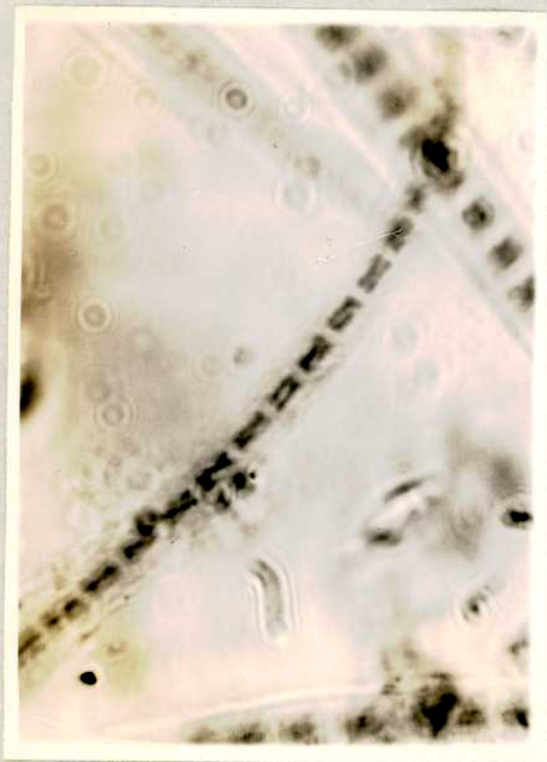
Calothrix parietina Born. et Flah.

Aspecto de los filamentos en vivo. Cultivo uni-algal.

v: vaina ; a: ápice del tricoma; He: heterocistos.

h: hormogonio.

Aumento: 4300X a la cámara clara. Oc. 18; Obj. 100.



1



2



3

## LAMINA Nº 21

Calothrix parietina Born. et Flah.

1, 2 y 3: Material en películas.

Fijador: Mezcla de RANDOLPH (Craf).Coloración: Hematoxilina férrica de Heidenhain.

Aumento:



1



2

## LAMINA Nº 22

Calothrix parietina Born. et Flah.

1 y 2: Material en películas.

Fijador: Mezcla de RANDOLPH(Craf).

Coloración: Hematoxilina férrica de Heidenhain.

Aumento:

Cap. V- ACCION DE LA COLCHICINA Y SULFANIL-  
AMIDA SOBRE EL CUERPO CENTRAL DE MICROCOLEUS VAGINATUS.

I-Acción de la colchicina.

La aplicación de la colchicina al estudio de las mitosis se inicia con los trabajos de A.F. DUSTIN (1934), quien puso en evidencia la acción electiva de esta droga sobre la cariocinesis en tejidos animales. BLAKESLET, BLAKESLET-AVERY, GAVAUDAN y colaboradores, WOLCOIT y otros observaron los resultados de la actividad de la colchicina sobre las células vegetales.

Mediante este alcaloide es fácil inducir en los vegetales la formación de núcleos poliploides, en los cuales, a medida que aumenta el número de cromosomas, aumenta también el volumen nuclear. La obtención de formas poliploides parece deberse a una inhibición de la formación del huso ó figura acromática, el cual al no desarrollarse determina que la separación de los cromosomas, ó no se realice ó sólo se lleve a cabo en forma deficiente.

GAVAUDAN y KOBOZIEFF (1938) sometieron a la acción de la colchicina un cloroflagelado, Chlamydomonas sp., y de sus observaciones concluyeron que esta droga tenía una doble acción: actuaba sobre la cariocinesis y modificaba además la citodieresis, actividad esta úl-

tina que se traducía por una repartición irregular de las inclusiones protoplasmáticas. Pero el año siguiente, VANDEENDRIES y GAVAUDAN (1939) no lograron los mismos resultados al repetir las experiencias con Chlamidomonas sp., a pesar de utilizar la misma cepa del cloroflagelado é idénticas concentraciones de colchicina. En consecuencia concluyeron estos autores, que esta droga no tenía efecto sobre el núcleo y el citoplasma de la especie de Chlamidomonas estudiada. Ensayaron además la actividad de la colchicina sobre una serie de vegetales inferiores, tales como Euglena gracilis, Saccaromyces cerevisiae, Pcilocybe semilanceolata, Coprinus radians y diversas bacterias del suelo, con resultados igualmente negativos.

En vista del probable mecanismo de acción de la colchicina como agente inhibidor de la formación del huso acromático, y dado que algunos autores como OLIVE, KOHL, PHILLIPS, BROWN y otros describen en las algas azules un huso primitivo ó figura acromática, era de interés estudiar la influencia de la colchicina sobre el proceso de división del cuerpo central de las cianofíceas. Cualquiera actividad de este alcaloide que se expresara por una modificación del número de granulaciones cromáticas del cuerpo central, podría sugerir que la división de dicho cuerpo aparentemente amitótica ó haplomitótica, implicara en realidad un proceso cariocinético. Con esta idea, aplicamos colchicina a filamentos de Microcoleus vaginatus, siguiendo técnicamente las indicaciones de GAVAUDAN y colaboradores, BLAKESLEE, DERMEN, y otros.

Aplicación de la colchicina a *Microcoleus vaginatus*

Gomont.

Filamentos jóvenes de *M. vaginatus* se sumergieron en soluciones de colchicina al 1%; 0,5%; 0,1%; y 0,05% durante tiempos variables para cada concentración (2; 4; 8; 12; 24 y 48 horas). Después de este tratamiento, el material se lavó con agua corriente durante 30 minutos a fin de eliminar prolijamente el alcaloide y luego se pasó al medio de cultivo normal. Tanto los cultivos sometidos a la acción de la colchicina como los controles (filamentos no tratados), se expusieron a la luz, a la temperatura del laboratorio.

A las 0; 8; 24 y 48 horas de permanecer el material en el medio de cultivo normal, se hicieron observaciones citológicas previa fijación con la mezcla de RANDOLPH y coloración con hematoxilina férrica.

El estudio citológico de dichos preparados, no ha revelado alteración del número de granulaciones cromáticas, ni estructuras particular que pueda ser considerada resultante de la actividad de la colchicina.

Este alcaloide, cuyo efecto principal parece ser la inhibición del huso acromático, carecería de acción en el caso de la especie citada. Estos resultados concuerdan con los señalados por VANDENDRIES y GAVAUDAN (1939) para una serie de organismos inferiores.

La inactividad de la colchicina sobre el mecanismo de división del cuerpo central de *Microcoleus vaginatus*, podría representar un argumento de naturaleza biológica en apoyo de la ausencia de un hu-

so ó figura cromática en el proceso de división de las algas azules. Indirectamente demostraría también, que la partición del cuerpo central se realiza por una simple amitosis.

## II-Acción de la sulfanil-amida.

En 1941 TRAUB logra obtener núcleos poliploides en células vegetales mediante una serie de sulfo compuestos, tales como sulfanil-amida, sulfa-allantoína, sulfa-guainidina y sulfa-piridina en soluciones concentradas. Las soluciones diluídas de dichos compuestos actúan como estimulantes del crecimiento, como ya lo observara GRACE (1938) para el caso de la sulfanil-amida.

EIGSTI (1940) y TRAUB (1941), <sup>observación</sup> que en los tejidos vegetales sometidos a la acción de la sulfanil-amida, las cariocinesis aparecen profundamente afectadas, sin que ninguno de estos dos autores prejuzgue del mecanismo que implica la aparición de tales anomalías.

### Aplicación de la sulfanil-amida a Micrococcus vaginatus Gomont.

Cultivos jóvenes de M. vaginatus se sumergieron en soluciones de sulfanil-amida al 1%; 0,5%; 0,1%; y 0,05% durante 2; 4; 8; 12; 24 y 48 horas. Luego, el material se lavó con agua corriente durante 30 minutos y se pasó al medio de cultivo normal. Los cultivos tratados y los controles (filamentos no sometidos a la acción de la droga), se expusieron a la luz, a la temperatura del laboratorio. Diariamente se



comparó el crecimiento del material tratado con sulfanil-amida con el desarrollo del cultivo normal.

Las películas de algas que fueran sumergidas en sulfanil-amida al 1% no mostraron crecimiento alguno con respecto al control, siendo también muy precario el desarrollo correspondiente a la concentración de 0,5%. Con la concentración 0,1% de sulfanil-amida se obtuvo el mejor crecimiento de M. vaginatus, y es sobre este material que se practicó el estudio citológico.

A las 0; 12; 24 y 48 horas de permanecer las películas de algas en el medio de cultivo normal, se realizaron fijaciones con la mezcla de RANDOLPH seguidas de coloración con hematoxilina férrica.

El análisis citológico del material sometido a la máxima concentración de la droga compatible con el crecimiento, demuestra que este sulfuro-compuesto carece de actividad sobre el proceso de división del cuerpo central. Dado que la configuración de este elemento aparece inalterada, podemos concluir que la sulfanil-amida, a la concentración empleada, no ejerce acción alguna sobre el mecanismo de división de M. vaginatus.

---

ADDENDUMCap. VI-CONTRIBUCION AL ESTUDIO CITOLOGICODE BEGGIATOA sp.

El hecho de presentar algunas especies de Beggiatoaceae (Thio-bacteriales) el aspecto de largos filamentos con movimiento deslizante, muy parecido al de ciertas cianofíceas, -particularmente Oscillatoriaceae-, hacía de interés indagar si concomitantemente a esta analogía externa, se podía revelar en las células de Beggiatoa sp. una estructura comparable al cuerpo central de las algas azules.

La existencia de un cuerpo central en Beggiatoa sp., podría sugerir la posibilidad de considerar algunos representantes de las Beggiatoaceae como estrechamente vinculados a las Schizophyceae.

Con esta idea, realizamos un breve estudio citológico de una especie no identificada del género Beggiatoa.

Son filamentos rectos, con movimiento deslizante, cuyo diámetro oscila entre 2,6 y 3,2 micrones.

En los cultivos en heno hervido suspendido en agua, los filamentos constituyen pequeños copos u ovillos de color blanco lechoso.

### I-Observación "in vivo".

En la observación "in vivo" y sin coloración, los filamentos de Beggiatoa sp. muestran numerosas granulaciones de azufre, muy refringentes y en número tan abundante que llenan completamente la célula, enmascarándolo los tabiques transversales. La cantidad de dichos gránulos de azufre depende de las condiciones fisiológicas del cultivo; así, manteniendo los copos de esta especie en agua destilada durante 12 ó 24 horas, los corpúsculos de azufre disminuyen lo suficiente como para permitir la observación de la estructura celular.

### II-Observación del material fijado y colorado.

El material empobrecido previamente en gránulos de azufre, se fijó con la mezcla de RANDOLPH(Craf) y se coloró con hematoxilina férrica.

La observación citológica de los preparados no reveló en las células de Beggiatoa, las dos zonas fácilmente distinguibles en las algas azules: el citoplasma periférico y el cuerpo central; solamente se ponen en evidencia granulaciones que se tiñen intensamente con la hematoxilina férrica y que aparecen diseminadas por todo el citoplasma. El examen citológico no pone de manifiesto estructura alguna que pueda homologarse al cuerpo central de las cianofíceas.

Estos resultados confirman los de A. GUILLIERMOND(1926), quien en dos especies de este mismo género describe también la presencia de finas granulaciones siderófilas distribuidas por toda la célula.

Por lo que antecede, Beggiatoa sp. a pesar de su morfología ex-

terna muy semejante a la de ciertas Oscillatoriaceae, no podría ser considerada como un elemento celular estrechamente vinculado a las algas azules.(1).

---

(1) En cambio, en otras Thiobacteriales (Rhodobacteriaceae) y en particular en Chromatium Okenii (DANGEARD, 1909) y en Thiocystis sp. , Lamprocystis sp. y Thiodyction sp. (GUILLIERMOND, 1932) se ha observado un cuerpo central comparable al de las Myxophyceae (algas azules) y en especial homologable al de Nostoc sp. según GUILLIERMOND. Para este autor las Rhodobacteriaceae podrían ser consideradas como una familia de las Schizophyceae, quedando planteada por consiguiente la heterogeneidad de las Thiobacteriales.

---

## Cap. VII-ELUCIDACION

En las especies de cianofíceas estudiadas, hemos observado una estructura central, "cuerpo central" de BUTSCHLI, constante en todas las células con excepción de los heterocistos y elementos en vías de degeneración (células bi-cóncavas, células viejas, pelos, etc.). En dicho cuerpo central se localizan elementos de gran afinidad por los colorantes básicos, cuyo estudio constituye el principal objeto de esta contribución.

Los resultados consignados en el presente trabajo, se basan en la observación citológica de especies pertenecientes a distintos géneros de diversas familias de Schizophyceae. El material, coleccionado en su "habitat" y subsiguientemente cultivado en el laboratorio, ha sido observado, inmediatamente después de recogido y a través de las numerosas generaciones representadas por los repicados sucesivos. En esta forma hemos dispuesto siempre de cultivos vigorosos, cuya observación periódica nos ha permitido verificar la estabilidad de la estructura central, durante un intervalo de casi cuatro años para algunas especies.

En el estudio citológico hemos procurado utilizar el mayor número de técnicas de fijación y coloración, a fin de evitar los errores que podrían ser determinados por el empleo de un único método.

En el Cap. III se han descripto las diversas técnicas aplicadas a Microcoleus vaginatus Gomont en especial, las cuales conducen a imágenes superponibles (Cap. IV), con diferencias solamente en lo que se refiere a nitidez ó delimitación más neta de las estructuras observadas. Este hecho nos permite concluir con gran probabilidad, que la configuración del material cromático del cuerpo central no representa un artificio de preparación, sino que corresponde a su distribución normal en la célula. (1).

En todas las especies enumeradas, el cuerpo central aparece constituido por un "hisloplasma" ó "sustancia matrix", de débil afinidad cromática y de contornos irregulares y en el cual, se destacan gránulos ó bastones cromáticos, que se tiñen intensamente con los colorantes nucleares. Dichos elementos cromáticos muestran un proceso de división que se repite regularmente a lo largo del filamento vegetativo.

#### A-División del cuerpo central.

La división del cuerpo central es en apariencia simplemente transversal. Los gránulos cromáticos se alargan en el sentido del tricoma, dando bastones más ó menos largos según las especies, los cuales se afinan posteriormente por su parte media hasta cortarse.

---

(1) Nuestros resultados se basan en la observación de más de 2.500 preparados, correspondientes a las distintas especies estudiadas a través de diversas generaciones.

Durante la división no hemos logrado observar trazas de huso ó fibras acromáticas, tal como señalaran PHILLIPS, KOHL, OLIVE y otros. Con todo, con la idea de que pudiera existir en las algas azules una figura fusorial difícil de revelar con nuestros métodos, sometimos filamentos de Microcoleus vaginatus a la acción de la colchicina, droga ésta que actúa en los núcleos superiores como agente inhibidor de la figura acromática, determinando la formación de núcleos poliploides. Pensamos al aplicar este alcaloide, que cualquier modificación de la estructura granular del cuerpo central inducida por la actividad de la colchicina, podría sugerir la existencia real de un mecanismo de división más complicado que el ya descrito, con intervención de un sistema fusorial ó figura acromática. Los resultados del tratamiento con colchicina, consignados en el Cap. V, indican que esta droga no ejerce acción alguna sobre el cuerpo central de las algas azules. Este hecho permitiría afirmar la ausencia de un huso de fuerzas durante el proceso de división. Indirectamente demostraría también, que la división del cuerpo central se realizaría por partición transversal.

#### 1)-Aspecto de los elementos cromáticos.

Los elementos cromáticos del cuerpo central, aparecen siempre en las especies estudiadas, como gránulos ó bastones bien separados entre sí. En ningún caso hemos logrado revelar estados espiremáticos ó ovillos de filamentos cromáticos más ó menos densos, análogos a los descritos por KOHL, PHILLIPS, GUILLIERMOND, BROWN, LEE, SPEARING y otros, aún en el caso de haber observado especies similares a las estudiadas por estos autores. Así, GUILLIERMOND (1933) describe en Phormidium autumnale un ovillo cromático en nada comparable a la estructura granular que

nosotros hemos observado en esta misma especie (Cap. IV), y GARDNER (1903) observa en Calothrix parietina una distribución de la sustancia cromática que no concuerda con la estructura que hemos revelado en una especie similar. (Cap. IV).

## 2) - Comportamiento de los elementos cromáticos durante la división.

Al iniciarse la división celular, los elementos cromáticos del cuerpo central, en forma de gránulos ó masas cromáticas más ó menos redondeadas, se alargan en el sentido del tricoma, dando bastones ó filamentos, a veces de una longitud considerable como en el caso de Calothrix parietina. Posteriormente, estos bastones muestran un afinamiento en la parte media, que gradualmente va aumentando, hasta que cada elemento cromático se parte en dos. Como a la división del cuerpo central sigue el clivaje de la célula, a cada célula hija le corresponde la mitad de cada uno de los filamentos cromáticos. La división se realiza simplemente por una partición transversal de los bastones cromáticos del cuerpo central.

Los gránulos y filamentos cromáticos no muestran indicios de escisión longitudinal, tal como describiera OLIVE en cianofíceas monocelulares y filamentosas. Cabe destacar que de todos los autores que admiten un proceso mitótico en la división de las algas azules, OLIVE es el único que ha logrado observar la escisión longitudinal de los elementos por él llamados cromosomas. Todos los demás, aún en el caso de admitir la presencia de cromosomas, como KOHL, PHILLIPS, GARDNER, LEE, etc., concluyen que la partición de dichos elementos es estrictamente transversal.

De nuestras observaciones podemos concluir que la división de las condensaciones cromáticas del cuerpo central parece ser simple-



mente transversal. El mecanismo corresponde a una división directa ó amitosis, ó a lo sumo, debido a la ordenación paralela de los filamentos cromáticos, podría considerarse como una haplomitosis.

### 3)-Estructura de los elementos cromáticos.

Los elementos cromáticos del cuerpo central aparecen siempre como condensaciones homogéneas de sustancia cromática, en las cuales no nos ha sido posible revelar estructura alguna, aún prolongando largamente la diferenciación. En ninguna de las especies estudiadas nos ha sido posible individualizar los elementos que caracterizan a los nucleosomas de HOLLANDE.

### 4)-Delimitación del cuerpo central.

El cuerpo central no presenta membrana alguna que lo delimite de la región periférica. Este carácter, ya señalado por numerosos citólogos, sugirió a HIERONYMUS el nombre de "núcleo abierto", para distinguir el cuerpo central desnudo ó sin membrana de las algas azules, del "núcleo cerrado" ó con membrana de los organismos superiores.

En las especies estudiadas por nosotros, el cuerpo central, de contornos irregulares y a veces extendiéndose de una pared transversal a otra, aparece siempre unido sin solución de continuidad al citoplasma periférico.

### 5)-Número de elementos cromáticos del cuerpo central.

La estructura granular del cuerpo central, no solo se repite a lo largo del tricoma con una regularidad notable, sino que muestra caracteres constantes en cuanto a su número.

En Microcoleus vaginatus hemos observado 2 y 4 granulaciones cromáticas, manteniéndose este número en un elevado porcentaje de células.

Si bien estos elementos cromáticos (gránulos ó bastones), no pueden ser llamados cromosomas, puesto que no hemos logrado revelar en ellos la estructura ni el comportamiento típico de los cromosomas verdaderos, es significativa no obstante, la constancia de su número y la distribución regular de los mismos a lo largo del tricoma. Su designación podría ser una simple cuestión de terminología, aunque creemos como ya fuera indicado en el Cap. IV, que el uso arbitrario de una terminología creada para estructuras bien definidas, ha sido quizá, una de las causas de la confusión reinante en las descripciones de los diversos autores. Por ello, no los denominaremos cromosomas como hicieran KOHL, PHILLIPS, OLIVE, LEE, BROWN y otros, pero creemos de interés llamar la atención acerca del número y ordenación de estos elementos cromáticos.

En todas las especies estudiadas, hemos podido verificar a través de numerosas generaciones, que, para cada especie, el número de elementos cromáticos del cuerpo central se mantiene constante. En cuanto al número en sí, no es muy elevado: 1 y 2 condensaciones cromáticas en Plectonema Nostocorum y Plectonema purpureum; 2 y 4 en Microcoleus vaginatus, Oscillatoria Grunowiana (forma a), Oscillatoria animalis, Calothrix parietina, y en Phormidium autumnale (forma a); 3 y 6 en Phormidium autumnale (forma b) y en Lyngbya Giuseppei; 4 ó 5 y 8 ó 10 en Phormidium autumnale (forma c).

**B-Correlación entre el número de granulaciones cromáticas y el espesor del filamento vegetativo.**

En algunas especies(Phormidium autumnale Gomont y Oscillatoria Grunowiana Gomont, Cap. IV), hemos encontrado hasta tres formas que sistemáticamente fueron consideradas como una única especie. En cambio, el análisis citológico revela en ellas, diferencias no solamente en la morfología externa (diámetro del filamento, forma de los ápices, color) sino también en la configuración granular del cuerpo central. Si estas formas se ordenan en el sentido creciente del número de granulaciones cromáticas del cuerpo central, es fácil ver, que a medida que este número crece, aumenta el diámetro de los filamentos vegetativos y concomitantemente se modifican algunos caracteres morfológicos.

Si bien no puede hablarse con respecto a las algas azules de estados haploides y poliploides, puesto que hasta el presente no ha sido posible revelar en ellas procesos sexuales ni cromosomas bien diferenciados, es notable la analogía entre estas diferentes formas de Phormidium autumnale y Oscillatoria Grunowiana y los casos de poliploidía en los organismos superiores.

**C-Condicción de reposo del cuerpo central.**

No hemos logrado individualizar estados de reposo del cuerpo central, entendiéndolo por tal estado, la condición normal de reposo de los núcleos bien diferenciados(1).

---

(1) Los corpúsculos densamente cromáticos, homogéneos, observables en algunas células de Oscillatoria Grunowiana (Cap. IV) y comparables a los descritos por LEE en Stigonema mamillosum como estados de reposo, no mostraron carácter alguno que permitiera relacionarlos con los gránulos cromáticos que presentan el cuerpo central de dicha especie.

Sin embargo, en base a las características tan particulares del cuerpo central de las lagas azules, y dado que en ninguna de las especies estudiadas fué posible poner en evidencia un elemento cromático único, que luego por algún mecanismo especial se resolviera en los gránulos cromáticos que normalmente hemos revelado en el cuerpo central, creemos que se puede asignar la condición de reposo a los elementos cromáticos que no muestren indicios de la división transversal, que caracteriza a estos elementos. Este criterio fué aplicado en nuestras descripciones.

En resumen, nuestras observaciones nos permiten concluir que el cuerpo central de las algas azules, zona dónde se condensa la sustancia cromática bajo forma de gránulos ó bastones, en número constante para cada especie y cuyo mecanismo de partición transversal se repite regularmente a lo largo del tricoma, representaría funcionalmente al núcleo de los organismos superiores.

Sus atributos morfológicos difieren fundamentalmente de los asignados a los núcleos bien diferenciados. En efecto, el cuerpo central de las cianofíceas carece de membrana que lo delimite de la región periférica; sus elementos cromáticos no muestran la estructura típica de los cromosomas verdaderos ni estados espiromáticos, ni fases de reposo comparables a los descriptos para los núcleos superiores. Sin embargo, la división del cuerpo central precede siempre al clivaje de la célula como en los organismos más evolucionados; sus elementos cromáticos muestran una configuración que se mantiene con notable regularidad, y se distribuyen previa división transversal, en las células hijas; y además, su naturaleza de nucleoproteína nos autorizaría a pensar que dicho material representa un estado filogenético del núcleo.

Finalmente, en cuanto a la discordancia entre las estructuras morfológicas tan variables descritas por los diferentes autores, y la regularidad de configuración de los elementos cromáticos del cuerpo central en todo el material observado por nosotros—sin que nos fuera posible poner de manifiesto otro tipo de estructura—, resulta de interés señalar que los diferentes autores, por lo menos en una especie, coinciden con nosotros. Así, OLIVE en especies de Oscillatoria y Phormidium, describe un sistema granular comparable al encontrado por nosotros, pero con un número mayor de granulaciones cromáticas (Pl. I, fig. 1-6; 7-9; 32-34); PHILLIPS en especies de Oscillatoria ha observado dos bastones cromáticos que luego se parten transversalmente (Pl. XXIII, fig. 11; 13; 14); GARDNER en Synechocystis aquatilis, única especie en la cual el autor describe un tipo de división que designa "tipo mitótico primitivo", señala un mecanismo que coincide en líneas generales con el que nosotros hemos encontrado (Pl. XXVI, fig. 42 y 43); y SPEARING en especies no determinadas del género Oscillatoria, encuentra un grupo de bastones cromáticos ordenados longitudinalmente y en número aproximadamente constante (5 ó 7), los cuales se dividen por una simple partición transversal (Pl. XIII, fig. 38-49).

La configuración del cuerpo central de estas especies muestra una notable analogía con las descritas por nosotros y difieren fundamentalmente de la asignada por estos mismos autores a las otras especies por ellos estudiadas.

Como "addendum" de este trabajo, hemos realizado un somero estudio citológico de una especie no identificada del género Beggiatoa

(Beggiatoaceae, Thiobacteriales), con el objeto de comprobar si en esta especie, cuya morfología externa es muy semejante a la de algunas cianofíceas-especialmente Oscillatoriaceae-, era posible revelar una estructura comparable al cuerpo central de las algas azules.

El examen de numerosos preparados demostró que Beggiatoa sp. no puede ser vinculada desde el punto de vista citológico con las Mixocphyceae, confirmando esta observación los resultados de GILLIER-MOND(1926).

---

Cap. VIII-RESUMEN Y CONCLUSIONES

1)-Se ha estudiado citológicamente la configuración del cuerpo central de Microcoleus vaginatus Gomont, Phormidium autumnale Gomont, Oscillatoria Grunowiana Gomont, Oscillatoria animalis Gomont, Lyngbya Giuseppei Drouet, Plectonema purpureum Gomont, Plectonema Nostocorum Gomont, Calothrix parietina Bornet & Flahault, directamente en los filamentos y en cortes longitudinales y transversales de 2 á 3 micrones de espesor. Además, se ha realizado un somero estudio citológico de una especie no determinada del género Beggiatoa.

2)-El material recogido en la naturaleza fué cultivado en el laboratorio sobre mezclas de arena y tierra estéril y en el medio de DETMER, previa obtención de los cultivos uni-algales.

3)-En el estudio citológico se procuró utilizar el mayor número de métodos de fijación y coloración, a fin de corroborar la estabilidad de las estructuras observadas.

4)-El cuerpo central aparece "in vivo" como una zona de escasa refringencia, que ocupa un gran volumen celular en comparación con el citoplasma periférico.

5)-En el material fijado y coloreado, el cuerpo central aparece constituido por un "hialoplasma" ó "sustancia matrix" y gránulo

los ó bastones cromáticos, estos últimos con gran afinidad por los colorantes nucleares.

6)-Los elementos cromáticos muestran un mecanismo de división que se repite regularmente a lo largo del tricoma: los gránulos se alargan formando bastones, que luego se afinan progresivamente en su parte media hasta cortarse. Al mismo tiempo se inicia la formación del tabique celular que conduce al clivaje de la célula.

La división del cuerpo central precede siempre al clivaje celular.

7)-La división es aparentemente amitótica, ó a lo sumo, podría considerarse como una haplomitosis, en base a la ordenación sensiblemente paralela de los bastones cromáticos.

No se ha logrado revelar estados espiremáticos, huso ni fibras acromáticas. Los elementos cromáticos del cuerpo central no muestran indicios de escisión longitudinal.

8)-Los elementos cromáticos del cuerpo central se presentan en un número constante para cada especie.

9)-En Phormidium autumnale Gomont se han encontrado 3 formas con distinto número de granulaciones cromáticas en el cuerpo central. Estas formas, al ser ordenadas en el sentido creciente del número de gránulos cromáticos del cuerpo central, muestran un aumento del diámetro de los filamentos vegetativos y variación de algunos caracteres morfológicos. Estos hechos presentan una notable analogía con los casos de polipléidía de los organismos superio-



res.

10)-En Oscillatoria Grunowiana Gomont se han encontrado dos formas, las cuales guardan entre sí una relación análoga a la descrita en Phormidium autumnale.

11)-No hemos encontrado estados de reposo semejantes a los descritos para los núcleos superiores.

En nuestras descripciones hemos llamado "células en reposo" a aquellas cuyos elementos cromáticos no mostraran indicios de división.

12)-Por su configuración, constancia del número de granuleciones cromáticas, regularidad del mecanismo de división a lo largo del tricoma, división previa al olivaje de la célula y naturaleza nucleoproteica, consideramos al cuerpo central como representando funcionalmente el papel del núcleo de los organismos superiores.

13)-La colchicina y sulfanil-amida no tienen acción alguna sobre el cuerpo central de las algas azules que se manifieste por una variación del número de granuleciones cromáticas del cuerpo central.

14)-El estudio citológico de Beggiatoa sp, no permite vincular a esta tiobacteria con las algas azules, a pesar de la gran semejanza en su morfología externa con algunas Oscillatoriaceae.

---

BIBLIOGRAFIA

- ACTON, E., (1914) "Observations on the cytology of the Chroococceae".  
Ann. of Botany. 28:433-454.
- BAUMGARTEL, O., (1920) "Das Problem der Cyanophyceenzelle".  
Arch. f. Protistenk. 41:50-148.
- BHÂNALWÂJA, Y., (1933) "False branching and sheath-structure in the myxophyceae, with special reference to the Scytonemataceae".  
Arch. f. Protistenk. 81:243-283.
- BLAKESLEE, A. F., (1937) "Didoublement du nombre des chromosomes chez les plantes par traitement chimique".  
Compt. R. Acad. Sc. Paris. 205:476-479.
- BLAKESLEE, A. F., and AVERY, A. G., (1937) "Method of inducing doubling of chromosomes in plants by treatment with colchicine".  
Jour. Hered. 28:393-411.
- BROWN, R. H., (1911) "Cell division in Lyngbya".  
Bot. Gaz. 51:390-392.
- BROWN, R. H., (1935) "The Plant kingdom".  
Ginn & Co.-U.S.A.-myxophyceae, pg. 391-405.
- BUTSCHLI, O., (1890) "Ueber den Bau der Bacterien und verwandter Organismen".  
Nat. medicin. Verein zu Heidelberg. Leipzig.  
Tomado en Bot. Zeitung. 48:463-465.
- BUTSCHLI, O., (1902) "Bemerkungen über Cyanophyceen und Bacteriaceen".  
Arch. f. Protistenk. 1:41-58.
- CATALDI, M. S., (1941) "Aislamiento en cultivo puro de Cianofíceas y algas monocelulares".  
Darwiniana. 5:228-239.

- CONN, H. J., (1940- "Biological Stains".  
Biotech. Publications, U.S.A.
- CZURDA, V., (1925) "Die Reinkultur von Conjugaten".  
Arch. f. Protistenk. 53:215-242.
- CHAMBERLAIN, Ch. J., (1935) "Methods in Plant Histology".  
Univ. of Chicago Press.-U.S.A.
- CHAPMAN, V. J., (1941) "An Introduction to the study of Algae".  
The McMillan Co.-N. York and Univ. Press Cam-  
bridge.
- CHATTON, E. et LWOFF, A., (1936) "Technique pour l'étude des Proto-  
zoaires, spécialement de leurs struc-  
tures superficielles (cinétome et ar-  
gyrome)".  
Bull. Soc. Franc. microscopie. 5:25-39.
- DANGEARD, P. A., (1909) "Note sur la structure d'une bactérie, le  
Chromatium Okenii".  
Bull. Soc. Bot. France. 56:291-295.
- DANGEARD, P., (1933) "Traité d'Algologie. Introduction à la Biologie  
et à la Systématique des Algues".  
Paul Lechevalier. Paris. → Myxophyceae, pg. 342-  
358.
- DEHORNE, A., (1920-1922) "Contribution à l'étude comparé de l'appa-  
reil nucléaire des Infusoires ciliés, des  
Luglènes et des Cyanophycées".  
Arch. zool. exp. et gén. 60:47-176.
- DELAPORTE, B., (1940) "Observations cytologiques sur Spirulina ver-  
sicolor Cohnn."  
Compt. R. Acad. Sc. Paris. 210:305-307.
- DERMEN, H., (1940) "Colchicine polyploidy and technique".  
Bot. Review. 6, 11:599-635.
- DROUET, F., (1943) "Myxophyceae of Eastern California and western Ne-  
vada".  
Field Museum Nat. History -Bot. Ser. -20:145-176.
- DUSTIN, A. P., (1934) "Contribution à l'étude de l'action des poisons  
caryoclasiques sur les tumeurs animales. → Deuxi-  
ème mémoire: Action de la colchicine sur le

sarcome greffé, type Crocker, de la souris".  
Bull. Acad. Roy. Méd. Belgique, Sér. V. 14:487-502.

EIGSTI, O. J., (1940) "A preliminary study of the effects of certain organic substances upon cell division".  
Amer. Journ. Bot. 27:Abstracts 15 s.

FISCHER, A., (1905) "Die Zelle der Cyanophyceen".  
Bot. Zeitung 83:51-130.

GARDNER, N. L., (1906) "Cytological studies in Cyanophyceae".  
Univ. of California Public. in Botany. 2:237-296.

GAVAUDAN, P. et GAVAUDAN, N., (1933) "quelques remarques sur la cytologie des Oscillariées".  
Bull. Soc. Bot. France. 80:706-712.

" " " " " , (1937) "modifications numériques et morphologiques des chromosomes, induites chez les végétaux par l'action de la colchicine".  
Compt. R. S. Biol. 126:985-988.

" " " " " , (1938) "Mécanisme d'action de la colchicine sur la caryocinese des végétaux".  
Compt. R. S. Biol. 128:714-716.

GAVAUDAN, P., (1938) "Sur les tissus à constitution mixte diploïde et polyploïde, développées chez les végétaux par action de la colchicine".  
Compt. R. Soc. Biol. 128:717-719.

GAVAUDAN, P. et KOBOZIEFF, N., (1938) "Action de la colchicine sur la la caryocinese et la cytodierese des Chlamydomonadinées".  
Compt. R. Soc. Biol. 127:790-793.

GRACE, N. H., (1938) "Note on sulphanilamide and other chemicals that act as plant growth promoting substances".  
Canad. Jour. Research 116:143-144.

GUILLIERMOND, A., (1905) "Contribution à l'étude cytologique des Cyanophycées".  
Compt. R. Acad. Sc. Paris. 141:427-429.

" " " " " , (1905) "L'appareil chromidial des Cyanophycées et sa division".

Compt.R.Soc.Biol.Paris 57:639-641.

- GUILLIERMOND, A., (1906) "Contribution à l'étude cytologique des Cyanophycées".  
Rév.Général.Botanique 18:392-408 y 447-465.
- " " (1906) "Les corpuscules metachromatiques ou grains de volutine".  
Bull.Inst.Pasteur Paris.4:145-151 y 193-200.
- " " (1925) "A propos de la structure des Cyanophycées".  
Compt.R.Soc.Biol.Paris.93:1504-1508.
- " " (1925) "Nouvelles observations sur la structure des Cyanophycées".  
Compt.R.Acad.Sc.Paris.180:951-954.
- " " (1926) "Nouvelles recherches sur la structure des Cyanophycées".  
Rév.Général.Botanique.38:129-145.
- " " (1926) "La structure de Beggiatoa et leurs relations avec les Cyanophycées".  
Compt.R.Soc.Biol.Paris.94:579.
- " " (1932) "Observations cytologiques sur les Rhodobactériés".  
Compt.R.Acad.Sc.Paris.194:1259.
- " " (1933) "La structure des Cyanophycées".  
Compt.R.Acad.Sc.Paris.197:182-184.

GUILLIERMOND, A., MANGENOT, G. et PLANTEFOL, L., (1933) "Traité de Cytologie Végétale".  
Le François.Paris.

HAUPT, A. v., (1923) "Cell structure and cell division in the Cyanophyceae".  
Bot.Gaz.75:170-190.

HIERONYMUS, G., (1893) "Ueber die Organisation der Phycochromaceenzelle".  
Bot.Zeitung.51:73-80.

HILLARY, B. B., (1939) "Uses of the Feulgen Reaction in cytology.

1-Effect of fixatives on the reaction".  
Bot.Gaz.101:276-300.

HILLARY, B.R., (1940) "Uses of the Feulgen Reaction in cytology.  
II-New techniques and special applications".  
Bot.Gaz.102:225-235.

HOLLANDE, Ch.A., (1916) "Solution colorante á base d'eosinates d'azur et de violet de methilene".  
Compt.R.Soc.Biol.Paris.79:746-748.

" " " , (1918) "Enrichissement du liquide fixateur de Bouin en acide picrique par addition d'acetate neutre de cuivre".  
Compt.R.Soc.Biol.Paris.81:17-20.

" " " , (1932) " Remarques au sujet de la structure cytologique des Cyanophycées: Nostoc verrucosum Vaucher et Phormidium uncinatum Gomont".  
Compt.R.Soc.Biol.Paris.109:1359-1362.

HOLLANDE, Ch.A. et HOLLANDE, G., (1932) "La structure cytologique des cellules des Cyanophycées".  
Compt.R.Soc.Biol.Paris.110:680-682.

HOLLANDE, Ch.A., (1933) " Remarques au sujet de la structure cytologique de quelques Cyanophycées".  
Arch.Zool.Éxp.et Génér.75:145-184.

HOROWITZ, S., (1926) " Estudios de cromosomas durante la formación del poler".  
Rev.Centro Est.Agron. y Veter. 19:472-485.

JOHANSEN, D.A., (1940) "Plant Microtechnique".  
McGraw-Hill Book & Co.-N.York.

KIRCHNER, O., (1900) "Schizophyceae" en ENGLER, A. und PRANTL, K., "Die Natürlichen Pflanzenfamilien".  
Leipzig 1(1a).

KNAYSI, G., (1942) "The demonstration of a nucleus in the cell of a Staphylococcus".  
Jour. of Bact.43:365-385.

KOHL, F.G., (1903) " Ueber die Organization und Physiologie der Cya-

nophyceenzelle und die mitotische Teilung ihres Kernes".  
Jena.

- KOHL, F.G., (1908) "Zur Frage nach der Organization der Cyanophyceenzelle und nach der mitotischen Teilung ihres Kernes".  
Beihefte z. Bot. Centralbl. 18: 1-8.
- LA COUR, L. (1931) "Improvements in everyday Technique in Plant Cytology".  
Jour. Roy. Microsc. Soc. 51: 119-126.
- " " " (1941) "Acetic-orcein: a new stain fixative for chromosomes".  
Stain Technol. 16: 169-174.
- LEE, S., (1927) "Cytological study of Stigonema mamillosum".  
Bot. Gaz. 83: 420-424.
- LUDFORD, J.R., (1928) "Studies in the Microchemistry of the cell. I-The Chromatin content of normal and malignant cells, as demonstrated by Feulgen Nuclear reaction".  
Proc. Roy. Soc. London-ser. B. 102: 397-406.
- MASSART, J., (1902) "Sur le protoplasme des Schizophytes".  
Mém. cour. Acad. Roy. Bruxelles. 61: 1-54.
- McCLUNG, C.E., (1939) "Handbook of Microscopical Technique".  
Paul B. Hoeber-N.York.
- MEYER, A., (1904) "Orientierende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins".  
Bot. Zeitung. 62: 113-152.
- MILOVIEOV, P.F., (1932) "La réaction nucléaire chez quelques végétaux inférieurs".  
Compt. R. Soc. Biol. Paris. 109: 170-171.
- NADSON, G., (1895) "Ueber den Bau des Cyanophycean-Protoplastes".  
Scripta Botanica Horti Petrop. 4 .  
Tomado en Bot. Centralbl. 63: 238-240.
- OLIVE, E.W., (1905) "Mitotic division of the nuclei of the Cyanophyceae".  
Beihefte z. Bot. Centralbl. 18: 9-44.

- PETTER, H. F. M., (1933) "La réaction nucléale de Feulgen chez quelques végétaux inférieurs".  
Compt. R. Acad. Sc. Paris. 197:88-90.
- PHILLIPS, O. P., (1904) "A comparative study on the Cytology and movements of the Cyanophyceae".  
Contrib. Bot. Lab. Univ. of Pennsylvania. 3:237-336, tab. 23-25.
- POJANSKY, G. und PETRUSCHENSKY, G., (1929) "Zur Frage über die Struktur der Cyanophyceen-zelle".  
Arch. f. Protistenk. 67: 11-45.
- RABINOVICH, L., (1940) "Existencia de un leucoplasto en Polytomella caeca. Su morfología en relación con la fuente nitrogenada del medio de cultivo."  
Rev. Inst. Bacteriológico (D. N. H.) Bs. As. 9:424-441, tab. 1-8.
- RANDOLPH, L. F., (1936) "A new fixing fluid and a revised schedule for the paraffin method in plant cytology".  
Stain Techn. 10:95-96.
- ROBINOW, C. F., (1942) "A study of the nuclear apparatus of bacteria".  
Proc. Roy. Soc. London. Ser. B. 130:299-324.
- SHARP, L. W., (1934) "Introduction to Cytology".  
McGraw-Hill Book & Co.-N. York.
- SMITH, G. M., (1933) "The Fresh-water Algae of the United States".  
McGraw-Hill Book Co.-N. York.
- " , (1938) "Cryptogamic Botany. 1-Algae and Fungi".  
McGraw-Hill Book & Co.-N. York.
- SPEARING, J. K., (1937) "Cytological studies of the Myxophyceae".  
Arch. f. Protistenk. 69:209-278.
- STEELE, W. C., (1931) "A new and rapid method for making permanent acetocerin smears".  
Stain Techn. 6:107-111.
- TILDEN, J. E., (1937) "The Algae and their Life Relations".  
Univ. of Minnesota Press.



- TOMASI, de J. A., (1936) "Improving the technic of the Feulgen stain  
Stain Techn. 11:137-144.
- TRAUB, H. P., (1941) "Effect of sulfanilamide and other sulfonamides  
on nuclear conditions in plants.  
Journ. Hered. 32:157-159.
- TUAN, H. CH., (1930), "Picric acid as a destaining agent for iron and  
hematoxylin".  
Stain Techn. 5:135-138.
- VANDENDRIESS, H. et GAVAUIN, P., (1939) "Action de la colchicine sur  
quelques organismes inférieurs  
Compt. R. Acad. Sc. Paris. 208:16  
1677.
- WASKMAN, S. A., (1927) "Principles of Soil Microbiology"  
Bell. Lindell and Co. London.
- WARD, H. B. and WHIPPLE, G. C., (1916) "Fresh-water Biology"  
New York.  
Myxophyceae, pp. 100-114.
- WARREN, H. E., (1941) "A section-swear method for plant cytology".  
Stain Techn. 16:9-12.
- WOLCOTT, G. B., (1941) "The effect of colchicine on a Hepatic"  
Journ. of Hered. 32, 2:67-70.
- ZACHARIAS, E., (1890) "Ueber die Zellen der Cyanophyceen"  
Bot. Zeitung 48:1-10; 17-26; 33-46; 49-60; 67-70.
- ZACHARIAS, E., (1892) "Ueber die Zellen der Cyanophyceen"  
Bot. Zeitung 50:617-624.
- ZACHARIAS, E., (1893) "Ueber die Zellen der Cyanophyceen"  
Bot. Zeitung 51:229-239.
- ZACHARIAS, E., (1907) "Ueber die neuere Cyanophyceen-Literatur".  
Bot. Zeitung 65:265-287.

LAMINA Nº 23

Representación esquemática, en base a las observaciones a la cámara clara, de la estructura del cuerpo central de las cianofceas estudiadas.

Fig. 1-5: Microcoleus vaginatus Gomont.-Distintos estados de la división del cuerpo central.

Fig. 2: Bastones cromáticos más ó menos paralelos que se afinan progresivamente por su parte media.

Fig. 4 y 5: Aspectos observados ocasionalmente.

Fig. 6: Cortes transversales en la especie anterior.

Fig. 7: Células del ápice de un tricoma de M. vaginatus.

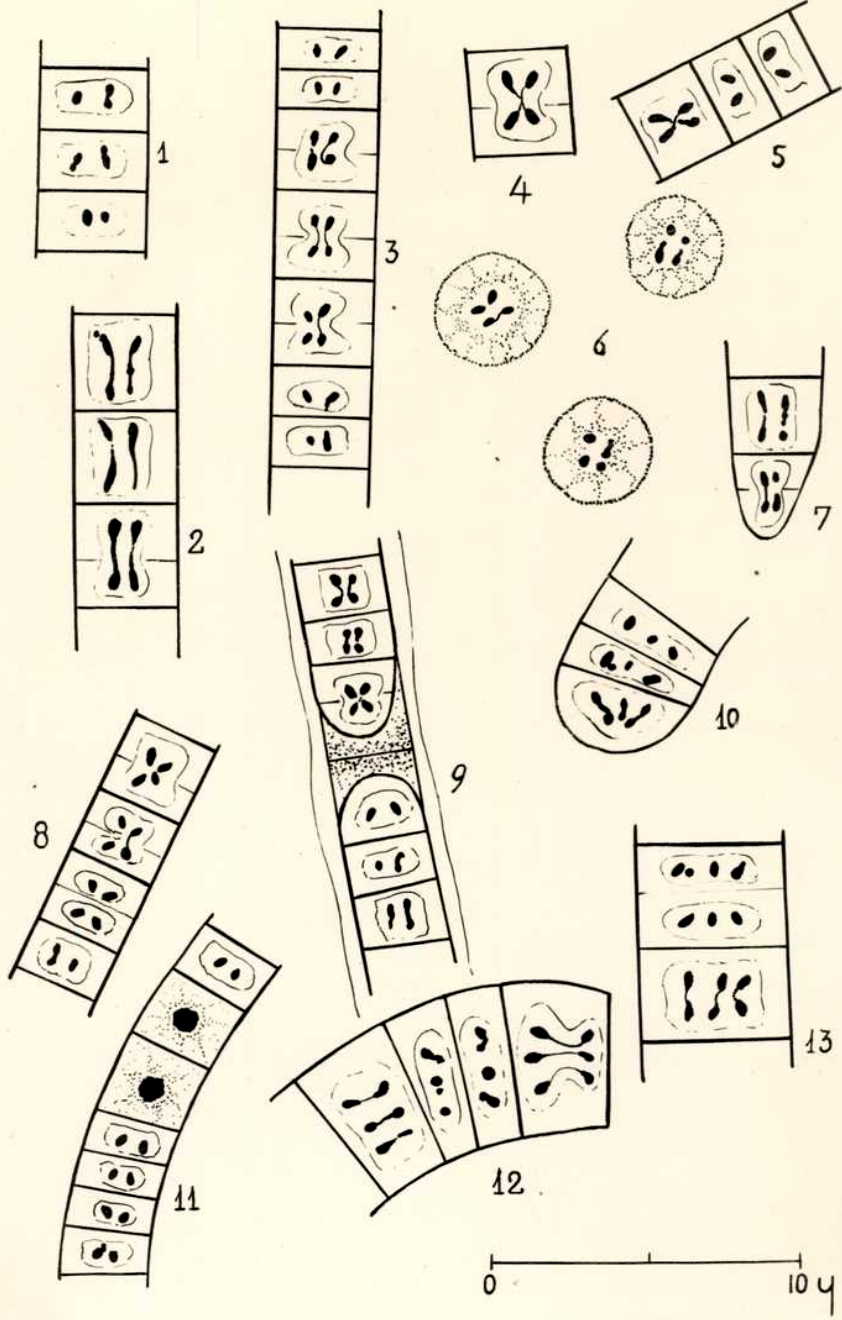
Fig. 8-9 y 11: Oscillatoria Grunowiana Gomont. (Forma a).-Estados de división del cuerpo central.

Fig. 9: Representación de hormogonios y vainas efímeras que aparecen en los cultivos en medio líquido.

Fig. 11: Gránulos cromáticos densos y homogéneos, ubicados en el centro de la célula.

Fig. 10, 12-13: Oscillatoria Grunowiana Gomont. (Forma b).-Gránulos cromáticos, en número de 3 por célula, que forman 3 bastones cromáticos los cuales luego se cortan transversalmente.

---



LAMINA Nº 23

LAMINA Nº 24

Representación esquemática, en base a las observaciones a la cámara clara, de la estructura del cuerpo central de las cianofíceas estudiadas.

Fig.1-5: Phormidium autumnale Gomont. (Forma a)..- Estados de división del cuerpo central.

Fig.1 y 3: En la Fig.1 se observan 2 bastones cromáticos más ó menos paralelos, por célula, los cuales se forman a partir de los gránulos cromáticos indicados en la Fig.3-.

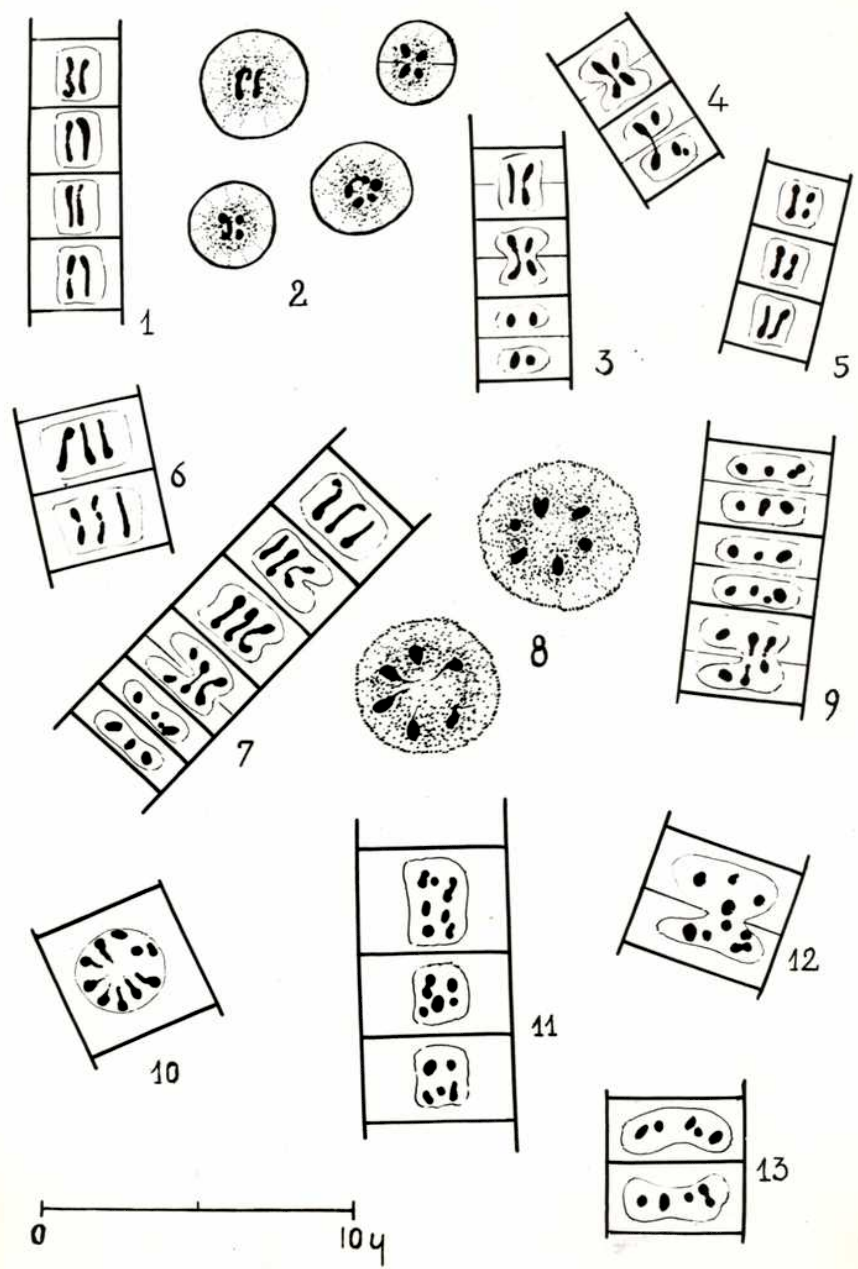
Fig.2: Aspecto de los cortes transversales.

Fig.4 y 5: Granulaciones cromáticas, en número de 4, que resultan de la partición de los bastones cromáticos indicados en la Fig.1-.

Fig.6-9: Phormidium autumnale Gomont. (Forma b)..- División del cuerpo central (Fig.6-7 y 9) y aspecto de los cortes transversales (Fig.8).

Fig.10-13: Phormidium autumnale Gomont. (Forma c)..- División del cuerpo central. El número de granulaciones cromáticas varía entre 4-5 y 8-10-.

---



LAMINA Nº 24

LAMINA Nº 25

Representación esquemática, en base a las observaciones a la cámara clara, de la estructura del cuerpo central de las cianofíceas estudiadas.

Fig. 1: Oscillatoria animalis Gomont.-Filamentos cromáticos que se extienden casi de una pared transversal a otra, los cuales se afinan progresivamente en la parte media hasta cortarse.

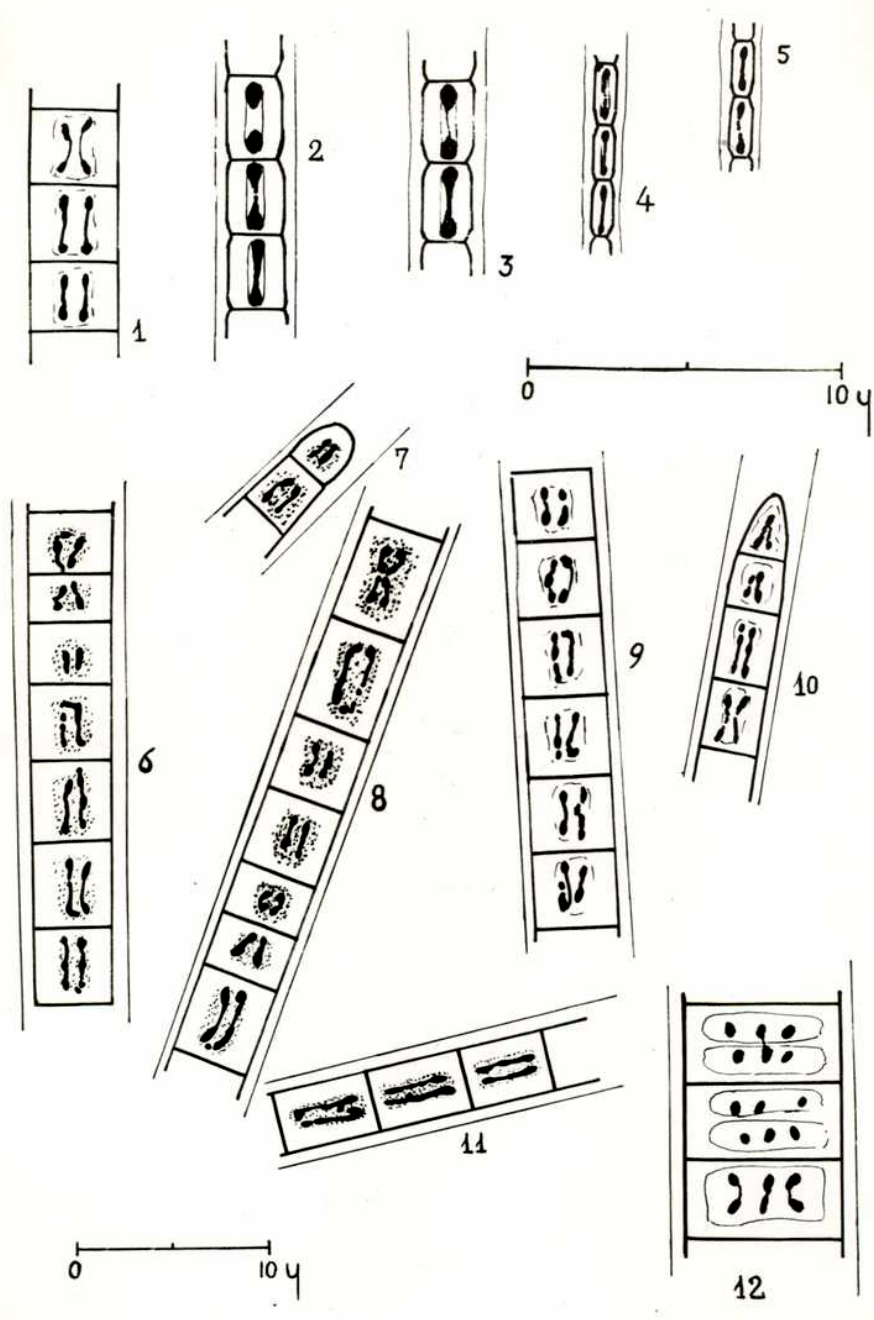
Fig. 2 y 3: Plectonema purpureum Gomont.-Estados de división del cuerpo central.

Fig. 4 y 5: Plectonema Nostocorum Gomont.-Partición del cuerpo central, con aspecto análogo al de Pl. purpureum.

Fig. 6-11: Calothrix parietina Born. & Flah.-Diversos estados del proceso de división del cuerpo central.

Fig. 12: Lynghya Giuseppei Drouet.-Cuerpo central discoidal, con 3 gránulos cromáticos, los cuales originan 3 bastones cortos y densos que a su vez, por partición transversal, forman 6 granulaciones cromáticas.

---



INDICE

	<u>Pag.</u>
<u>INTRODUCCION</u> .....	1
<u>Cap. I-ANTECEDENTES</u> .....	4
<u>Cap. II-MATERIAL</u> .....	22
Recolección .....	22
Purificación uni-algal y cultivos .....	22
Nómina del material aislado .....	24
<u>Cap. III-METODOS</u> .....	26
a) -Observación "in vivo" .....	26
b) -Observación con material fijado y colorado .....	27
1-Métodos de fijación .....	28
2-Métodos de coloración .....	31
<u>Cap. IV-RESULTADOS OBTENIDOS</u> .....	41
<u>Microcoleus vaginatus</u> Gomont.....	41
<u>Phormidium autumnale</u> Gomont .....	54
<u>Oscillatoria Grunowiana</u> Gomont .....	66
<u>Oscillatoria animalis</u> Gomont .....	73
<u>Lynxbya Giuseppei</u> Drouet .....	77
<u>Plectonema purpureum</u> Gomont .....	81
<u>Plectonema Mostecorum</u> Gomont .....	81
<u>Calothrix parietina</u> Born.& Flah. ....	85
<u>Cap. V-ACCION DE LA COLGHICINA Y SULFANILAMIDA</u> <u>SOBRE EL CUERPO CENTRAL DE Microcoleus</u> <u>vaginatus GOMONT</u> .....	92



	<u>Page.</u>
<u>Cap.VI- ADDEDUM: CONTRIBUCION AL ESTUDIO</u>	
<u>CITOLOGICO DE <i>Beggiatos</i> sp. ....</u>	97
I) Observación del material "in vivo"....	98
II, Observación del material fijado y colorado.....	98
 <u>Cap.VII- ELUCIDACION</u> .....	 100
 <u>Cap. VIII- RESUMEN Y CONCLUSIONES</u> .....	 110
 <u>BIBLIOGRAFIA</u> .....	 123
 <u>LAMINAS 23-25</u> .....	 121
 <u>INDICE</u> .....	 127

---

*Armenian*

---

*Delio Kalinowski*

---