

NOTAS CIENTIFICAS.

BOTANICA

III.—UNA TECNICA HISTOLOGICA PARA PHAEOPHYCEAE.

HECTOR ETCHEVERRY DAZA

Muchas son las técnicas recomendadas para el estudio histológico de las algas en general y de las Feofíceas en particular; pero todas ellas dan resultados no del todo satisfactorios, o sólo se prestan para objetivos determinados (estructura del estipe, de la fronda, o de los órganos de la reproducción).

He ensayado en varias Feofíceas y en diferentes órganos del alga el método que describo, con resultados muy satisfactorios, razón por la cual, me permito recomendarlo, no sólo por su facilidad de realización sino también porque proporciona los elementos de juicio suficientes para la identificación de las especies, que en muchos casos sólo pueden determinarse atendiendo a su estructura histológica.

Las Feofíceas, a causa de la naturaleza de la estructura de su membrana celular, no son fáciles de teñir adecuadamente por los procedimientos usuales. Las paredes celulares que están formadas principalmente de celulosa y de una porción gelatinosa de naturaleza péctica, en proporción variable, según las especies y tejidos, no se tiñen convenientemente, pues fijan siempre un exceso de colorante, por lo que la diferenciación es lenta y escasa. Lo mismo ocurre con el citoplasma, y por esto puede decirse que las coloraciones corrientes empleadas en las plantas vasculares son prácticamente inútiles en las Feofíceas. Los líquidos fijadores, por otra parte, influyen también notablemente en los resultados de la tinción.

DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO

I.—Fijación:

• He empleado dos de los fijadores más indicados para algas: formalina al 10% en agua de mar, y una solución de ácido cromo-acético al 1%. En la formalina se deja el material 24 horas y aún más.

El ácido cromo-acético lo he utilizado de acuerdo con la siguiente fórmula: (1).

(1) Tomada de Johansen.

Agua de mar (filtrada).....	100 cc.
Acido crómico	1 gr.
Acido acético, glacial	1 cc.
Saponina	0,5 gr.

Si se desea preparar una cantidad de solución madre, agréguese la saponina a medida que se emplee.

El material se debe dejar en el líquido sólo hasta que se haya fijado bien. Para muchas formas blandas y para las algas filamentosas, el líquido debe diluirse hasta la mitad de su volumen en agua de mar; tales formas se fijan en cuatro horas aproximadamente. Las frondas de las Laminariales, los estipes y otros órganos necesitan permanecer 24 horas.

II.—Lavado:

Una vez fijado el material, debe lavarse con abundante agua de mar. El traslado al agua pura debe hacerse pasando por diluciones progresivamente mayores de agua de mar, hasta llegar a agua destilada.

Puedo aconsejar la siguiente pauta:

- 1.º 75% de agua de mar por 25% de agua destilada
- 2.º 50% " " " 50% " "
- 3.º 25% " " " 75% " "
- 4.º Agua destilada. Dejar una hora en cada mezcla,
y no menos de doce horas en agua destilada.

III.—Deshidratación e inclusión en parafina.

IV.—Cortes en secciones de 6 ó 7 micrones.

V.—Pegar al porta objeto con albúmina glicerizada.

Conviene hacer notar que un exceso de ácido cromo-acético, cromas los tejidos y los cortes adhieren mal al porta objeto, desprendiéndose durante las manipulaciones ulteriores.

VI.—Tinción:

He ensayado la tinción con hematoxilina Delafield y con hematoxilina férrica de Heidenhain, obteniendo mejores resultados con esta última, aún en las especies de talo grueso.

Una vez lograda la diferenciación conveniente, se hace la coloración de contraste con una **solución de Pardo de Bismarck** al 1% en alcohol de 70º; tiñendo durante 20 minutos. No conviene prolongar este tiempo porque resulta imposible decolorar.

Tanto las formas filamentosas, como las más grandes laminariales, incluso las más desarrolladas, se tiñen bien y contrastan con el pardo de Bismarck; sólo las fucáceas, por el exceso de mucílago, no se diferencian bien.

Puede usarse en vez del pardo de Bismarck, verde indeleble, naranja G o eosina; pero ésta última no ha dado resultados satisfactorios.

Al emplear Pardo de Bismarck es necesario cambiar el alcohol de 70° en que se lava la preparación tan pronto como se haya saturado con el colorante.

Deshidratar como de costumbre con alcohol de 95° y absoluto, aclarar en xilol, y finalmente montar en bálsamo.

Material y Resultados:

Las especies en que el método se ha experimentado son: Laminariales, Laminariaceae (*Lessonia nigrescens* Bory, *L. flavicans*

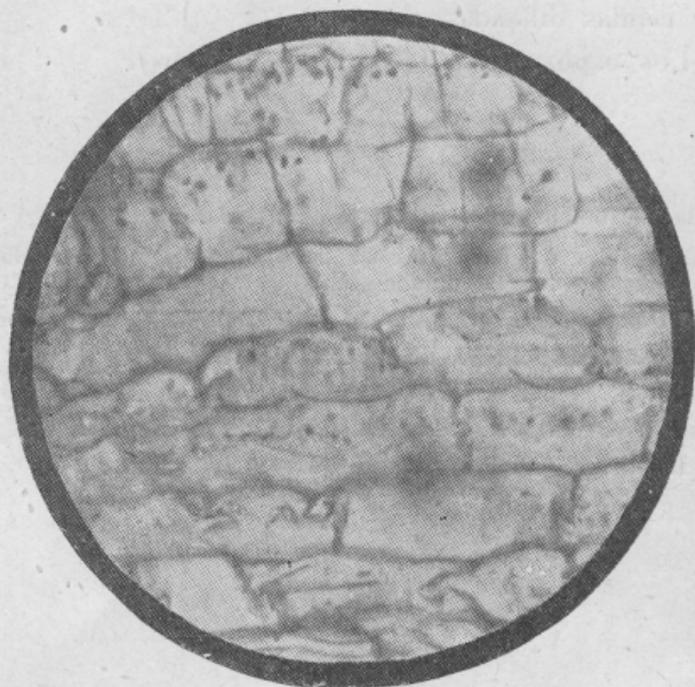


Fig. 45.—Corte transversal de la fronda de *Lessonia nigrescens* Bory. Hematoxilina férrica y Pardo de Bismarck, Feoplastos en las células epidérmicas.

Bory y *Macrocystis pyrifera*, C. A. Ag.); Fucales, Fucaceae (*Durvillaea antarctica*, Cham.); Dictyotales, Dictyotaceae (*Padina fernandeziana*, Scottsb. et Leyr. y *P. distromatica*, Levr. y *Dictyota phlyctenodes*, Montagne).

Se utilizaron de cada especie diversos órganos (aparato adhesivo, estipe, fronda, órganos reproductores).

El método permite apreciar los detalles de la constitución histológica, y observar:

1.º—Las paredes celulares que tiñen intensamente.

2.º—Los feoplastos, que se colorean de pardo intenso, además se aprecia su distribución en las distintas capas celulares y su disminución progresiva hacia la médula.

3.º—Los conductos productores de mucílago, (especialmente en las especies de *Lessonia* y *Macrocystis*), cavidades con líquido viscoso dispuestas radialmente.

4.º—Las hifas, elementos de sostén, tan característicos de las especies de *Lessonia* y que constituyen el tejido central, habitualmente denominado médula.

5.º—Los elementos cribosos, de función conductora, formadas por células dilatadas, y

6.º—Los esporangios (esporas y paráfisis).

B I B L I O G R A F I A

1. Chamberlain, Charles J. 1932. «Methods in Plant Histology» Chicago.
2. Gatenby, J. Brontë and Painter, Theophilus S. 1937. «The microtome's Vedemecum». Philadelphia.
3. Johansen, Donald A. 1940. «Plant Microtechnique». New York.
4. Langeron, M. 1942. «Précis de Microscopie». Paris.
5. McClung, C. R. 1937. «Handbook of Microscopical Technique». London.
6. Oltmanns, Friedrich. 1904. «Morphologie und Biologie der Algen. Jena.
7. Romeis, B. 1928. «Técnica Histológica». Barcelona.