

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DETERMINACION DEL CICLO CELULAR EN EL MERISTEMO

RADICULAR DE TURBINA CORYMBOSA (L.)PAF.

T E S I S QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

BIOLOGO PRESENTA:

CARLOS JORGE AGUIAR ORTIGOSA.

México, D. F.

1981.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

I N D I C E:

Resumen	1
Introducción	2
Generalidades	
Objetivo	
Material y Método	9
Resultados	12
Discusión	13
Conclusiones	17
Bibliografía	18
Tablas	21
Figuras	25

R E S U M E N:

Se determinó la duración total del ciclo celular y de cada una de las fases en las células que constituyen el meristemo radicular de Turbina corymbosa (L.) Raf.; mediante el empleo de las técnicas de inducción de células tetraploides con colchicina y de incorporación de timidina tritiada y su detección por autorradiografía. Se encontró que el valor para el ciclo total de 15 horas con la primera técnica y de 14 horas con la segunda. La fase S dió un resultado de 5.8 horas de duración, mientras que la fase  $G_1 + 1/2 M$  fue de 4.2 horas y la de  $G_2 + 1/2 M$  correspondió a 4.0 horas.

También se obtuvo el número cromosómico de esta planta, -- el cual corresponde a 30 cromosomas aproximadamente.

## I N T R O D U C C I O N

Poco tiempo después de que la célula fue reconocida como la unidad estructural fundamental de los seres vivos, se postuló que cada célula surge de una célula preexistente. La célula de reciente formación después de un periodo de tiempo y en condiciones propicias dará a su vez, origen a otras células.

Es usual pensar en los procesos biológicos en términos de ciclos: ciclos de vida, ciclos metabólicos, ciclos fisiológicos, etcétera.

Al hablar de la vida de una célula se puede pensar también en un ciclo: el ciclo celular, que es el periodo comprendido entre la formación de una célula producto de la división de su célula madre y el tiempo transcurrido en el cual la misma célula se divide para formar dos células hijas — (Mitchison, 1973).

Se considera comúnmente que el ciclo celular se inicia cuando ha terminado una división celular y finaliza cuando se completa la siguiente división; el tiempo que toma un ciclo celular para llevarse a cabo, se denomina tiempo de generación (Prescott, 1976). El ciclo celular, también es conocido como ciclo mitótico (Howard y Pelc, 1953; Van't Hof, 1955a y Avanzi y Deri, 1969) o ciclo nuclear (Timber, 1960).

En términos generales, una célula para dar origen a otras células, debe de pasar por diversas etapas: de crecimiento, de replicación de ADN y de división. La continuidad de los fenómenos morfológicos y fisiológicos, a través del ciclo, es comúnmente investigada observando los procesos de fácil identificación: la división celular y la replicación — del ADN.

El primer evento reconocido dentro del ciclo de vida de una célula fue la mitosis, en 1875 E. Strasburger, un botánico alemán, publicó una descripción detallada de la mitosis en las células vegetales y pocos años después W. Flemming describe el mismo proceso en células animales, también observó y describió la división longitudinal de unas estructuras durante la división del núcleo, denominadas cromosomas por Waldeyer en 1888 (De Witt, 1977). El proceso de replicación del ADN fue estudiado por Howard y Pelc (1953) en el meristemo radicular de Vicia faba, marcando las radículas con un isótopo radiactivo, el fósforo 32 y determinando por autorradiografía que el ciclo celular consta de cuatro intervalos sucesivos:

1. En el que el ADN incorpora el isótopo radiactivo debido a que está en proceso de replicación. Esta fase fue denominada S (de síntesis).
2. Entre el final de la división celular y el comienzo de la replicación del ADN (fase S), que simbolizarán como fase G<sub>1</sub> (de "first gap").
3. Entre el final de la fase S y el comienzo de la división celular, que denominarán fase G<sub>2</sub> ("second gap").
4. El tiempo transcurrido durante la división celular o mitosis, fase D o M.

El periodo comprendido entre dos divisiones celulares y que contiene a las fases G<sub>1</sub>, S y G<sub>2</sub>, también es conocido como interfase; antes llamada fase de reposo, por no ser aparente ninguna actividad en el núcleo. Este término ha sido descartado actualmente ya que la interfase es un periodo de intensa actividad metabólica.

En la tabla I se presentan las determinaciones de la duración del ciclo celular de diferentes especies vegetales.

El ciclo celular puede ser estudiado con varias técnicas,

sin embargo, la que proporciona la mayor información acerca de los tiempos en que se llevan a cabo las diferentes fases, es la de autorradiografía — que utiliza un marcador radiactivo del ADN, como es la timidina tritiada — (Howard y Dewey, 1960); este marcador es el más utilizado debido a que tiene mejor resolución, es específico del ADN y se difunde fácilmente en la raíz de los vegetales, por lo que es factible colocarlo durante poco tiempo en contacto con el espécimen; esta sustancia se utiliza generalmente en concentraciones de 0.1 a 1.0  $\mu\text{C}/\text{ml}$  (Howard y Dewey, 1960; Kimber, 1960, — 1966; Van't Hof, 1965a, 1965b; Bloch y Col., 1967; Avanzi y Deri, 1969 y Langridge y Col., 1970), en estas concentraciones el marcador radiactivo no causa alteraciones en el ciclo (Howard y Dewey, 1960). Aun en concentraciones tales como 3  $\text{mg}/\text{l}$  de timidina no radiactiva, colocada en contacto con la raíz durante cuatro horas, no causa alteraciones en las divisiones celulares ni en el crecimiento subsiguiente, aunque esta misma concentración, detiene la síntesis del ADN en células de mamíferos (Puck, 1967).

La timidina tritiada proporcionada exógenamente a la célula, es fosforilada por la kinasa de la timidina; una enzima que está ampliamente distribuida en todos los organismos, excepto en levaduras y en Neurospora; mediante la fosforilación se produce monofosfato de timina, el cual se incorpora al ADN como timina marcada radiactivamente (Mitchison, 1973).

El ADN marcado con timina radiactiva se puede determinar en las células por la técnica de autorradiografía, colocando sobre el material una emulsión fotográfica por un periodo, después del cual se revelan por procesos fotográficos los granos de plata precipitados sobre las estructuras celulares radiactivas (Bélangier, 1961; Caro y van Tubergen, 1962; Hedrano, 1975; Borlyn y Mikicho, 1976 y Hayes, 1980).

Para medir el tiempo total del ciclo celular se utiliza - la técnica de colchicina, un alcaloide que evita la formación del huso acromático por disgregación de los microtúbulos, ocasionando que la división se detenga en la metafase, formándose células tetraploides las cuales pueden continuar su ciclo celular al remover la colchicina. Las células tetraploides se pueden identificar por las técnicas usuales de tinción cromosómica, como la de acetocarrín (García, 1977). Para determinar la duración total del ciclo celular se toma en cuenta el tiempo donde se detiene la máxima frecuencia de células tetraploides después de haber agregado la colchicina (Van't Hof y Col. 1960).

Van't Hof (1963) estudió la síntesis de ADN, de proteínas y de ARN durante el ciclo celular en meristemas radiculares de Pisum sativum Var. Alaska, mediante la técnica de autorradiografía; utilizó como marcadores a la timidina, citidina y leucina tritadas, determinando que la síntesis de ADN corresponde siempre a la fase S, que la formación de ARN se lleva a cabo a lo largo del ciclo, excepto en metafase y en anafase y que la síntesis proteica es alta durante todo el ciclo, siendo más activa en el periodo G<sub>2</sub>.

Bloch y colaboradores (1967) estudiaron en Allium cepa la síntesis de histonas asociadas a la cromatina y encontraron que la síntesis de ADN o histonas coinciden muy estrechamente durante el ciclo, pero que estas últimas se siguen sintetizando a través de G<sub>2</sub>. Concluyen además, que la síntesis de ADN depende de la síntesis de histonas pero no a la inversa.

Van't Hof y Kovacs (1970) trabajando con Pisum sativum, encontraron que radículas cultivadas in vitro y expuestas a una dosis de

300 R de rayos gamma, sufren daños en la transición de la fase  $G_1$  a S y también, que hay modificaciones en el tiempo total de la división; proponen que la causa pudo ser la síntesis de una proteína defectuosa producida durante la fase  $G_1$ , en el momento de la irradiación.

Wimber (1966) encontró que en el ciclo celular del meristemo radicular de Tradescantia paludosa puede ser modificado por la temperatura. Cuando las radículas fueron tratadas a 21°C y 30°C se obtuvo un acortamiento del ciclo; principalmente en la fase de  $G_1$ , y que a 13°C el ciclo celular se alarga debido a que el tiempo de la mitosis y de la fase  $G_2$  se triplica y de la fase S se duplica; esto puede explicar el que las raíces que crecen a temperaturas bajas tienen una velocidad de crecimiento menor que las raíces que crecen entre 20°C y 30°C.

Otro de los factores que influyen en la duración de las fases del ciclo, en las células radiculares, es la cantidad de ADN nuclear (Van't Hof, 1965b). La duración del periodo S y la duración del ciclo total aumentan proporcionalmente con la cantidad de ADN por célula y también, con la tasa de síntesis de ADN. Las células con bajo contenido de ADN como Crepis capillaris, Impatiens balsamica y Isconarsicum esculentum, tienen ciclos cortos de aproximadamente igual longitud (tabla I); mientras que las células de Allium cepa, A. fistulosum, A. tuberosum y Tradescantia paludosa que tienen grandes cantidades de ADN tienen ciclos más largos.

Wilson y colaboradores (1959) demostraron que en un cultivo de células meristemáticas cesa la división celular después de transcurridas 12 horas de la siembra, sino hay una fuente de carbono en el medio de cultivo. Van't Hof (1965a) encontró que en el meristemo radicular de chícharo, el ciclo se acorta si se agrega sacarosa desde el momento de la

siembra y que el ciclo más rápido se encuentra a una concentración de 2% del azúcar.

De las aproximadamente 1 650 especies de Convolvulaceae — que existen (Sampathkumar, 1979); dentro de las cuales está incluida Turbinacorymbosa (Wasson, 1963), la especie que más se ha utilizado para estudios del ciclo celular ha sido Convolvulus arvensis (Phillips y Torrey, 1972). En ésta convolvulacea se ha encontrado que las diferentes ubicaciones de las células en el meristemo, presentan diferentes duraciones del ciclo celular (Tabla II); así por ejemplo, las células iniciales de la primera hilera del meristemo presentan un ciclo de 13 horas, las de la segunda a la cuarta hilera, su ciclo es de cerca de 155 horas, las del centro quince y veinte de 420 horas, las del estile de 21 horas y las de la corteza de 27 — horas. Clowes (1961) encontró valores semejantes en las mismas estructuras del meristemo radicular de Vicia faba.

Los mecanismos de regulación del ciclo celular han sido objeto de intensos estudios; sin embargo, la mayor información al respecto — se ha obtenido trabajando en células animales. Se considera que en la regulación del ciclo de los linfocitos intervienen el AMP cíclico y el GMP cíclico (Hadden y Cole, 1972). En células vegetales este campo comienza a — ser investigado; Langridge y colaboradores (1972) al cruzar dos especies — de compuestas con ciclos celulares semejantes en duración, como son Crepis capillaris y C. neglecta, el híbrido presenta un ciclo corto y un mayor alargamiento de los cromosomas que proviene de C. capillaris y un mayor acortamiento de los provenientes de C. neglecta; esta anomalía cromosómica que se conoce como amiplastia neutral, es la causante del acortamiento en la duración del ciclo celular de estas plantas. En la misma investi-

gación se determinó que otras especies de Crepis con cromosomas más largos presentan también ciclos mayores; lo cual se correlaciona con el descubrimiento de Van't Hof (1965b) de que la cantidad de ADN determina la longitud de la fase S y del ciclo total.

En la investigación de Phillips y Torrey (1972) en Convolvulus arvensis, se observa que el centro quiescente del meristemo radicular presenta muy pocas divisiones y un ciclo celular muy largo, siendo el periodo de G<sub>1</sub>, el que ocupa el mayor tiempo; el mecanismo que regula esta duración no se ha explicado, sin embargo, se especula que la regulación de los ciclos celulares de las diferentes subpoblaciones del meristemo radicular, está mediada por factores activos que pueden inhibir o estimular la división celular, cuyo sitio de producción podría ser el centro quiescente. Los conocimientos actuales muestran que sustancias naturales o sintéticas tienen acción en el crecimiento vegetal, pero todavía no se conoce de que manera se regula la producción de tales sustancias, por lo cual son importantes los estudios sobre el ciclo celular que puedan informar en que fases del ciclo hay inducción o inhibición de la síntesis de reguladores del crecimiento vegetal.

Con el objeto de determinar la duración total y la de cada una de las fases del ciclo celular de las células del meristemo radicular de Turbina corymbosa (L.) Raf., se realizarán tratamientos mediante las técnicas de inducción de tetraploidía con colchicina y de marcaje con timidina tritiada.

## MATERIAL Y METODO

Las semillas de Turbina corymbosa (L.) Raf. utilizadas en la presente investigación se colectaron en marzo de 1960, en la localidad de - San Carlos Yautepec, Oaxaca México.

Se seleccionaron 300 semillas y se lavaron en una solución de hipoclorito de calcio al 5% durante 15 minutos, posteriormente se enjuagaron 5 veces con agua destilada estéril. Las semillas se escarificaron lateralmente con una lima flameada y se dejaron en imbibición durante un periodo de 12 horas, después del cual fueron sembradas entre capas de papel filtro humedecidas con agua destilada estéril. La germinación se llevó a cabo en oscuridad y a temperatura constante de  $27^{\circ} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , en un incubador bacteriológico Plus II. Electric Co.

Cuando las radículas presentaban una longitud de 3-4 cm se separaron en dos lotes de 120 plántulas cada uno, para los siguientes tratamientos:

A. Con colchicina: las radículas se sumergieron durante 15 minutos en una solución de colchicina (N-3Co.)  $4 \times 10^{-3}$  % (concentración determinada mediante ensayos, siendo esta en la cual se encontró mayor índice de células tetraploides), después de lo cual fue removida por lavados sucesivos con agua destilada estéril (hora cero) y permitiéndoles continuar su crecimiento posteriormente. Cada hora se tomaron 5 plántulas a las cuales se les cortó 2 mm del ápico radicular (que se fijaron en etanol: ácido acético 3:1, durante 24 horas), este procedimiento continuó hasta completar 24 horas, haciendo un total de 120 ápices. Posteriormente los ápices se lavaron con agua de la llave y agua destilada, se colocaron en HCl 1N durante 10 minutos y se tizaron con acetocarmín durante 30 minutos. A cada ápice se lo a-

plicó la técnica de aplastado o "squash" (García, 1977).

Las preparaciones se hicieron permanentes congelando las laminillas con CO<sub>2</sub>, para separar el cubreobjetos (Östergren y Hancock, 1962).

El material se deshidrató con alcoholes graduales (50, 70, 96 y 100 %), se aclaró con xileno y se montó en bálsamo del Canadá.

B. Con timidina tritiada (TH<sup>3</sup>): Las radículas se colocaron en una solución de TH<sup>3</sup> 1  $\mu$ C/ml (New England Nuclear) de acuerdo a Van't Hof (1965b), durante 15 minutos, en la oscuridad; después de lo cual se lavaron diez veces con agua destilada estéril, este paso se considero hora cero. Las plántulas siguieron creciendo en la oscuridad y se hicieron cortes de 2 mm del ápice, cada hora, hasta completar 24 horas. La fijación y la tinción se llevaron a cabo de la forma indicada anteriormente.

Las preparaciones tñidas se separaron de su cubreobjetos después de la congelación y se cubrieron con emulsión fotográfica MB2 de Kodak, dejándose en exposición durante 15 días, en la oscuridad y a 4°C; las autorradiografías se revelaron con Kodak D-19 (4 minutos), se lavaron con agua destilada (4 min.) y se fijaron con Kodak rápido (4 min.). Las preparaciones se hicieron permanentes con el método descrito en el inciso anterior.

Para determinar la duración del ciclo celular por el método de inducción de células tetraploides con colchicina, se hicieron conteos por campo microscópico; contándose cerca de 1000 células en metafase, por preparación, de las cuales se obtuvo el porcentaje o frecuencia de células tetraploides.

Para establecer las fases del ciclo celular por el método de timidina tritiada, se contaron aproximadamente 1000 células en mitosis,

por hora de corte.

Las observaciones y conteos se hicieron en campos visuales tomados al azar, a 500X y 1250X; en un microscopio Carl Zeiss de contraste de fases y las fotografías se tomarón con el mismo aparato.

## RESULTADOS

Las frecuencias de células tetraploides obtenidas mediante el tratamiento con colchicina y de mitosis marcadas con timidina tritiada, se muestran en la tabla III.

Las gráficas obtenidas de los datos de la tabla III, se presentan en las figuras 1 y 2.

La duración total del ciclo celular en los ápices radiculares de Turbina corymbosa, obtenida mediante la técnica de colchicina fue de 15 horas (tabla IV, figura 1). Al utilizar la técnica de timidina tritiada la duración del ciclo total fue de 14 horas; el tiempo promedio determinado para la fase  $G_1 + 1/2 M$  fue de 4.2 horas; para la fase S de 5.8 horas y para la fase  $G_2 + 1/2 M$  fue de 4.0 horas (tabla IV, figura 2).

En la figura 3 se observa a una célula del meristemo radicular de Turbina corymbosa en metafase, se pueden apreciar cerca de 30 cromosomas; la figura 4 muestra una mitosis tetraploide en donde se pueden contar más de 30 cromosomas.

En la figura 5 se presenta una autorradiografía de células meristemáticas, donde hay células en interfase y en mitosis con granos de precipitación en núcleos y cromosomas.

En la figura 6 se muestra la autorradiografía de una metafase con los granos de precipitación confundidos con los cromosomas.

En la figura 7 se puede apreciar la autorradiografía de una célula meristemática de T. corymbosa en anafase.

## DISCUSION

Los estudios realizados sobre el ciclo celular se han ido perfeccionando a través del establecimiento de técnicas cada vez más precisas.

El análisis de los resultados obtenidos mediante el tratamiento con colchicina, proporciona información sobre la duración del ciclo puesto que el tiempo que transcurre desde la aplicación del alcaloide hasta la obtención del mayor porcentaje de células tetraploides en mitosis, corresponde al tiempo total del ciclo celular (Van't Hof, 1965b).

El uso de la timidina tritiada como un marcador selectivo para el ADN, vino a ser una herramienta muy útil para determinar no solo el tiempo total del ciclo sino también, para establecer la duración de cada una de sus fases.

Es claro que la timidina solamente podrá ser incorporada a la molécula del ADN cuando esta se esté duplicando, por lo cual es un indicador de la fase S del ciclo celular.

Al analizar la frecuencia total de los eventos ocurridos durante la experimentación, se observa que las primeras muestras no presentan mitosis marcadas, debido a que en el momento del pulso se encontraban en la fase postsintética del ADN o fase G<sub>2</sub>. Las células que durante el pulso se encontraban en la última parte de la fase S, incorporarán el marcador, mismo que puede ser detectado posteriormente cuando estas células entran a mitosis; siendo éstas las primeras mitosis que presentan marca. Las células que en presencia de la timidina radiactiva, se encontraban al principio de la fase S, inician la mitosis un poco después que las anteriores, au

mentando el porcentaje de mitosis marcadas y aquellas células que se encontraban en la fase  $G_1$  llegan a la mitosis sin presentar marca.

Howard y Pelc (1953) proponen un sistema para calcular la duración del ciclo celular y de sus fases, en meristemas radicales y Quaglier y Sherman (1959) utilizan el mismo método para el estudio del ciclo en células animales.

Con los resultados obtenidos se realiza una gráfica del porcentaje de mitosis marcadas contra el tiempo. A partir del análisis de la curva se obtiene la duración del ciclo total y de sus fases.

La duración promedio del periodo  $T$  es tomada como el intervalo de tiempo entre el ascenso y el descenso de la curva, en el punto del 50 % de células meristemáticas marcadas (figura 2). El tiempo anterior a la fase S, en la curva, corresponde a la fase  $G_1$  más la mitad de la mitosis; debido a que implica a las células que se encontraban en el periodo postsintético del ADN.

Las primeras células marcadas que llegaron a mitosis pasan todo un ciclo y vuelven a entrar en división, ocasionando que la frecuencia de mitosis marcadas se eleve nuevamente. Una estimación del tiempo promedio del ciclo, se obtiene tomando en cuenta el intervalo entre los puntos del 50 % de las curvas que ascienden (Van't Hof, 1965b; Langridge y Col., 1970; Mitchison, 1973 y Prescott, 1976).

Dado que el tiempo promedio del ciclo es conocido, así como la duración de las fases S y  $G_2$  más un medio de  $T$ ; es posible también, conocer la duración de  $G_1$  más un medio de  $T$ , por sustracción.

El marcado ascenso y descenso de la curva de la figura 2 — muestra que hay una cierta sincronía en las divisiones de las células del

ápice radicular de *T. corymbosa*, esta sincronía no es total dado que hay puntos que se salen de la curva; además, la primera elevación de la curva, la cual corresponde a la fase S principalmente, llega a un 70 % de figuras mitóticas lo cual indica que hay un 30 % de células no sincronizadas en sus divisiones. Estas células no sincronizadas posiblemente pertenecen a las subpoblaciones meristemáticas del centro quiescente y de la coifa, con ciclos muy largos o sin divisiones celulares, las cuales impiden que la curva llegue a un 100 % de figuras mitóticas marcadas. Una situación semejante puede estar ocurriendo en la inducción de células tetraploides por la colchicina; las cuales llegan hasta aproximadamente un 71 % de mitosis tetraploides.

La disminución de la altura del segundo pico, en la gráfica de la figura 2, muy probablemente se deba a que las células paulatinamente van desincronizándose debido al tratamiento con la timidina trititada.

El método de colchicina para determinar la longitud total del ciclo celular sirve también como un indicador de la confiabilidad de la confiabilidad de la medición del ciclo con el método de timidina trititada, el cual además, nos informa de la duración de las fases.

Al analizar los resultados obtenidos sobre la duración total del ciclo con los métodos de colchicina y timidina trititada se observa una diferencia de una hora, debida probablemente a las subpoblaciones celulares que componen al meristemo; sin embargo, esta diferencia de una hora no desecha significativamente la medición del ciclo y de sus fases por el método de timidina trititada, sino que indica que hay que tomar en cuenta a las subpoblaciones del meristemo para estos estudios. De cualquier manera, no conoce ahora que el tiempo de generación de las células meristemáticas

de Turbina corymbosa (L.) Raf. es de 14 a 15 horas a 27°C.

Si bien el propósito de esta investigación fue conocer la -- duración del ciclo celular y de sus fases en el ápice radicular de T. corymbosa; también, fue posible determinar aproximadamente el número cromosómico de esta convolvulacea, el cual se estima alrededor de 20 cromosomas.

Phillips y Torrey en 1972, estudiaron el ciclo celular del -- ápice radicular de Convolvulus arvensis, tomando en cuenta las diversas poblaciones celulares, como son las células de la corteza, del estela, del -- centro quiescente, etcétera (tabla II). El valor que encuentran para las células iniciales de la primera hilera es de 13 horas siendo muy parecido al valor obtenido en el meristemo radicular de Turbina corymbosa en este trabajo.

Hoy en día los estudios sobre el ciclo celular de cualquier tipo de célula, van más allá de la mera determinación de la duración. Ahora se pretende tan exactamente como sea posible, conocer los eventos que caracterizan las distintas etapas por las que atraviesa una célula a lo largo de su existencia, así como los factores que regulan estos hechos. Sin embargo, cualquier estudio de este tipo debe ser iniciado con el conocimiento sobre la duración del ciclo total y de cada una de sus fases, solo así es posible llegar a determinar la influencia que ejercen diversos factores químicos y físicos sobre el ciclo celular siendo este el objetivo de futuras investigaciones en las células del meristemo radicular de Turbina corymbosa.

## CONCLUSIONES

1. Se determinó la duración total del ciclo celular del meristemo radicular de Turbina corymbosa (L.) Raf. mediante el empleo de dos técnicas: la de colchicina y la de incorporación de timidina tritiada y su detección por autorradiografía.
2. Por el método de colchicina se obtiene el valor de 15 horas como tiempo total del ciclo celular.
3. Mediante la técnica de incorporación de timidina tritiada y su determinación por autorradiografía, el valor encontrado para la duración total — del ciclo fue de 14 horas.
4. El tiempo determinado para la fase S fue de 5.8 horas, para la fase  $G_1$  — más un medio de M de 4.2 horas y para la fase  $G_2$  más 1/2 M de 4.0 horas.
5. El número cromosómico diploide de Turbina corymbosa es de 30 cromosomas aproximadamente.
6. Se encontró que existe cierta sincronía en las divisiones de las células meristemáticas del ápice radicular.

BIBLIOGRAFIA

- Avanzi, S. y P. Deri, 1969. Duration of the mitotic cycle in two cultivars of Triticum durum as measured by  $^3\text{H}$ -thymidine labelling. Caryologia 22(2): 187-194.
- Bélanger, L. 1961. Staining Processed radioautographs. Stain Technol. 36: 313-317.
- Berlyn, G. y J. Miksche. 1976. Botanical microtechnique and cytochemistry. Iowa State University Press. p. 270-286.
- Bloch, D.; T. Macnigg; S. Brack y J. Wu. 1967. The syntheses of deoxyribo nucleic acid and histone in the onion root meristem. J. Cell Biol. 33:451-463.
- Caro, L. y R. van Tubergen. 1962. High-resolution autoradiography I. Methods. J. Cell Biol. 15:173-183.
- Clowes, F. 1961. Duration of the mitotic cycle in a meristem. J. Exptl. Bot. 12:233-238.
- De Witt, W. 1977. Biology of the Cell: an evolutionary approach. W. B. Saunders Co. Philadelphia. p. 485-497.
- García, V. 1977. Manual de Técnicas de Citogenética. Colegio de Postgraduados. Chapingo México. p 113.
- Haddon, J.; S. Hadden; M. Haddox y N. Goldberg. 1972. Guanosine 3':5'-cyclic monophosphate: a possible intracellular mediator of mitogenic influences in lymphocytes. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 69:3027-3037.
- Howard, A. y D. Denny. 1960. Variation in the period preceding deoxyribo nucleic acid synthesis in bean root cells. En: J. Mitchell (Ed.) - The Cell Nucleus. Butterworth. London. 155-162.

- Howard, A. y S. Pelc. 1953. Synthesis of deoxyribonucleic acid in normal - and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. Heredity Lond. (Suppl.) 6: 261-263.
- Langridge, W.; T. O'Malley y H. Wallace. 1970. Neutral amphiplasty and regulation of the cell cycle. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 67: 1774-1900.
- Medrano L. 1975. Células, Virus y Cáncer. Ed. Blume. Barcelona. p. 31-40.
- Mitchison, J. 1973. The Biology of the Cell Cycle. Cambridge University - Press. Gran Bretaña. p 331.
- Östergren, G. y W. Hansen. 1962. A squash technique for chromosome morphological studies. Hereditas 48:332-341.
- Phillips, H. y J. Torrey. 1972. Duration of cell cycles in cultured roots of Convolvulus arvensis. Amer. J. Bot. 59: 132-133.
- Puck, T. 1964. Phasing, mitotic delay and chromosomal aberrations in mammalian cells. Science (N.Y.). 174: 565-566.
- Prescott, D. 1976. Reproduction of Eukariotic Cells. Academic Press. Nueva York. p.189.
- Reyes, C. 1980. Incorporación de timidina tritiada durante las primeras etapas del proceso de germinación en el eje embrionario de semillas de Phaseolus vulgaris L. Tesis de Biólogo. Facultad de Ciencias. UNAM. México.
- Sampathkumar, R. 1977. Karyomorphological studies in some south indian Convolvulaceae. Cytologia. 44: 275-286.
- Van't Hof, J.; G. Wilson y A. Cole. 1960. Studies on the control of mitotic activity. The use of colchicine in the turg of a synchronous - population of cells in the meristem of Pisum sativum. Chromosoma. 11: 312-321.

- Van't Hof, J. 1963. DNA, RNA and protein synthesis in the mitotic cycle of pea root meristem cell. Cytologia 28: 30-35.
- Van't Hof, J. 1965a. Cell population kinetics of excised roots of Pisum sativum. J. Cell Biol. 27: 179-189.
- Van't Hof, J. 1965b. Relationships between mitotic cycle duration and the average rate of DNA synthesis in the root meristem cells of several plants. Exptl. Cell Res. 39: 43-53.
- Van't Hof, J. y C. Kovacs. 1970. Mitotic delay in two biochemically different G<sub>1</sub> cell populations in cultured roots of pea (Pisum sativum). Radiat. Res. 44: 700-712.
- Wasson, R. 1963. Notes on the present status of ololiuqui and other hallucinogens of Mexico. Botanical Museum Leaflets Harvard University. Cambridge, Mass. Vol. 20, No. 6.
- Wilson, G.; J. Morrison y H. Knobloch. 1959. Studies on the control of mitotic activity in excised roots. J. Biophys. and Biochem. Cytol. 5: 411-415.
- Wimber, D. 1960. Duration of the nuclear cycle in Trifolium pratense root tips as measured with H<sup>3</sup>-thymidine. Amer. J. Bot. 47: 114-116.
- Wimber, D. 1966. Duration of the nuclear cycle in Trifolium pratense root tips at three temperatures as measured with H<sup>3</sup>-thymidine. Amer. J. Bot. 53: 21-24.

Tabla I. Duración del ciclo celular y de cada una de sus fases en diferentes especies vegetales. Las determinaciones fueron realizadas en células meristemáticas, mediante las técnicas de inducción de tetraploides con colchicina - (ciclos totales) y de autorradiografía, marcando el ADN con timidina tritiada (determinación de las fases).

Especie	Duración en horas					Referencia
	G <sub>1</sub>	S	G <sub>2</sub>	M	total	
<u>Vicia faba</u>	12	6	8	4	30	Howard y Polo, 1953
<u>Vicia faba</u>	2	4	8	4	18	Howard y Dewey, 1960
<u>Pisum sativum</u> . TH <sup>3</sup>	6.9	5.3	0.73	2.55	16	Van't Hof, 1965a
con colchicina	-	-	-	-	20	
<u>Crepis capillaris</u>		3.25			10.75	Van't Hof, 1965b
<u>Impatiens</u>		3.0			3.8	
<u>Lycopersicum</u>		4.2			10.6	
<u>Allium fistulosum</u>		10.5			19.0	
<u>A. cepa</u>		10.5			17.4	
<u>A. tuberosum</u>		11.0			20.6	
<u>Triticum aestivum</u>						
a 30°C	2.4	9.5	2.4	1.7	16	Wisker, 1966.
a 21°C	5.5	10.2	2.5	1.7	20.0	
a 13°C	15.4	22.5	3.2	5.1	51.2	
<u>Triticum durum</u>						
Var. Aziziah	2.25	6.5	4.75	1.0	14.0	Avanzi y Tori, 1969
Var. Capelli	1.3	9.2	4.75	1.0	16.25	
<u>Crepis capillaris</u>	2.4	3.6	2.0	0.7	9.7	Langridge y Col. 1970
<u>C. neglecta</u>	4.5	2.0	2.2	0.5	9.8	
<u>C. neglecta X C. capillaris</u>	3.0	3.1	2.5	0.7	9.3	

Tabla II. Diferentes duraciones del ciclo celular en Convolvulus pr-  
vensis, según la ubicación de la célula en el meristemo radicular. Según  
Phillips y Torrey (1972).

Ubicación de la célula	Duración del ciclo. (horas).
iniciales de la primera hilera	13
iniciales de la segunda hilera	155
centro quiescente	420
estelo	21
cortaza	27

Tabla III. Frecuencias de mitosis tetraploides, causadas por colchicina y de mitosis marcadas radiativamente, con timidina tritiada, determinadas por autorradiografía.

Hora de corte	Porcentaje de células tetraploides	desviación estándar	Porcentaje de mitosis marcadas	desviación estándar
0	-	-	0	0
1	0	0	0.2	0.1
2	2.1	1.2	22.2	8.5
3	2.3	1.0	24.9	15.1
4	10.4	3.5	31.4	10.0
5	32.4	9.4	43.8	7.6
6	37.4	11.7	63.4	9.3
7	44.7	9.5	69.1	3.6
8	43.5	5.9	64.5	7.4
9	43.0	7.6	37.3	11.3
10	54.4	3.2	24.4	10.3
11	53.3	4.7	27.2	8.9
12	55.0	5.4	7.9	3.5
13	57.2	7.2	6.8	2.3
14	63.2	3.6	9.3	3.3
15	71.4	21.4	12.2	3.7
16	65.1	12.3	21.4	14.1
17	49.2	9.5	17.7	11.1
18	45.5	6.2	35.2	14.2
19	48.3	10.2	50.7	9.2
20	42.2	12.0	54.2	7.3
21	40.2	9.4	36.5	10.2
22	41.0	11.3	13.4	9.0
23	33.2	13.5	3.3	4.1
24	43.0	16.7	9.2	5.0

Tabla IV. Duración (en horas) del ciclo celular total y de sus fases, del ápice radicular de Turbina corymbosa (L.) Raf.; determinados por los métodos de colchicina y timidina tritiada, respectivamente.

Método de análisis	T I E M P O  E N  H O R A S			
	G <sub>1</sub> + 1/2 M	S	G <sub>2</sub> + 1/2 M	TOTAL
Colchicina	-	-	-	15
Timidina tritiada	4.2	5.3	4.0	14

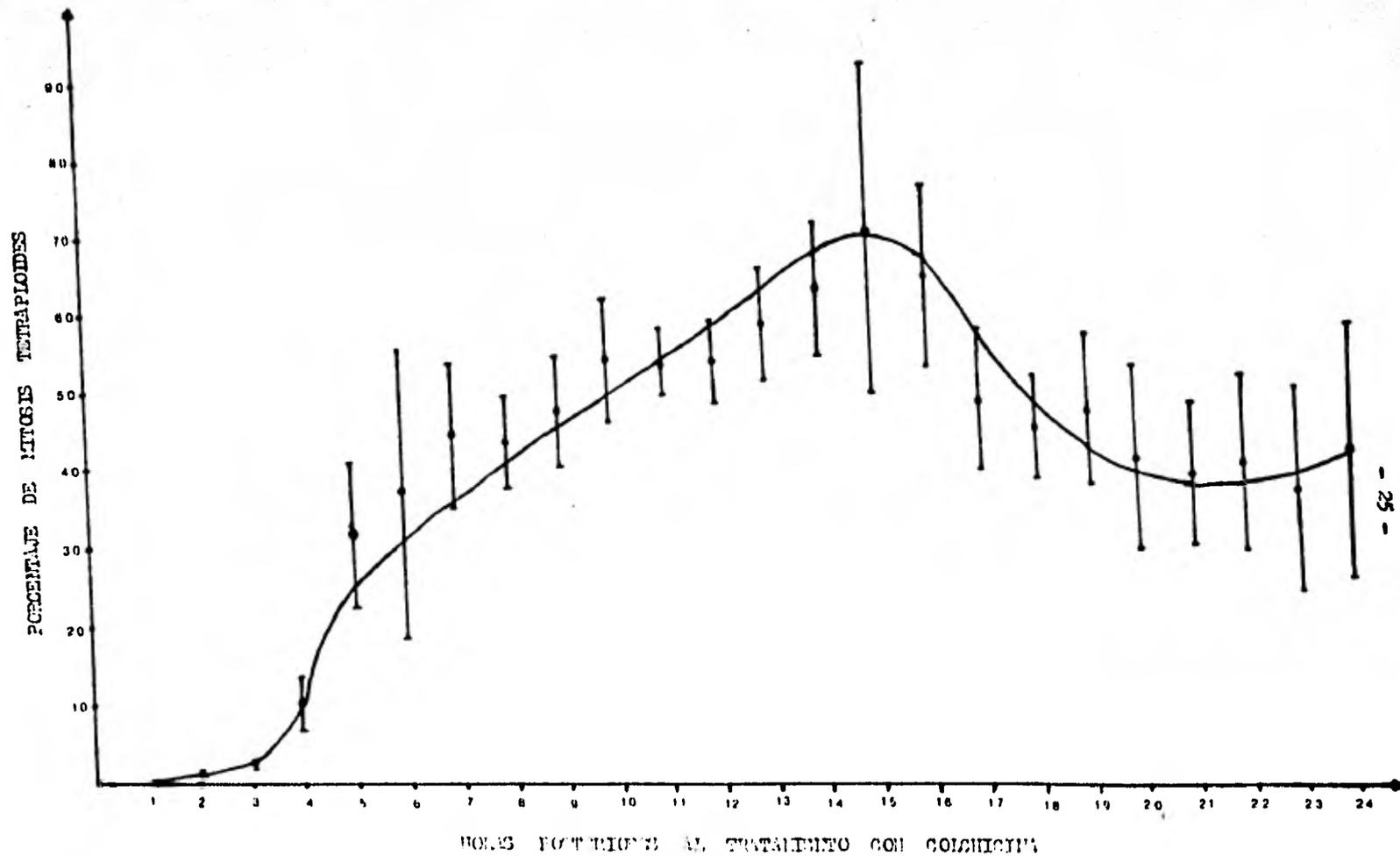


Figura 1. Frecuencia de células tetraploides inducidas por colchicina, y observadas en mitosis; que aparecen durante 24 horas. Las desviaciones estándar están indicadas.

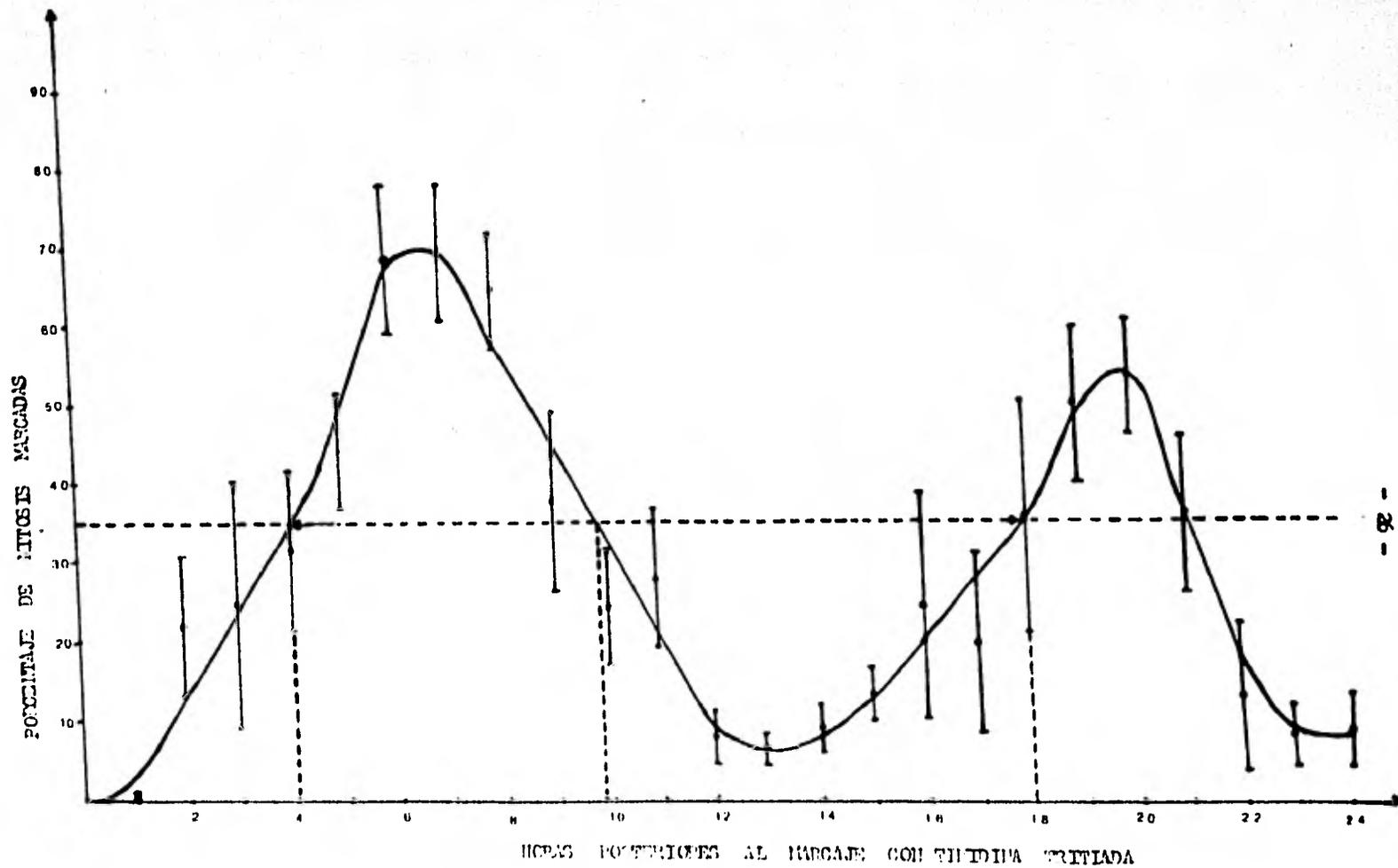


Figura 2. Frecuencia de mitosis marcadas con  $^3\text{H}$ , en nucleolos de *V. corymbosa*; determinadas cada hora por autoradiografía. La desviación estándar está indicada

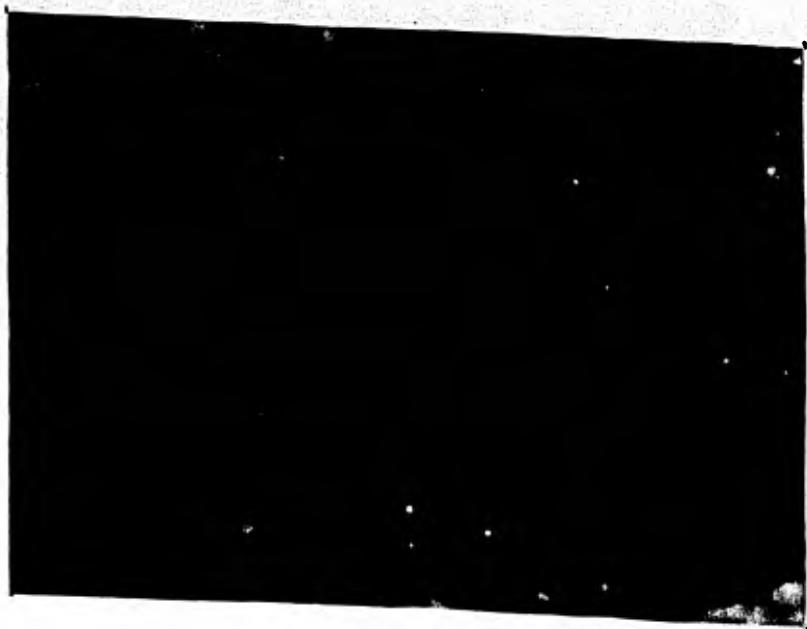


Figura 3. Células del ápico radicular de *T. corymbosa* teñidas con acetocarmín, mostrando que el número cromosómico consta aproximadamente de 30 cromosomas. Microfotografía tomada con objetivo de 100 X.

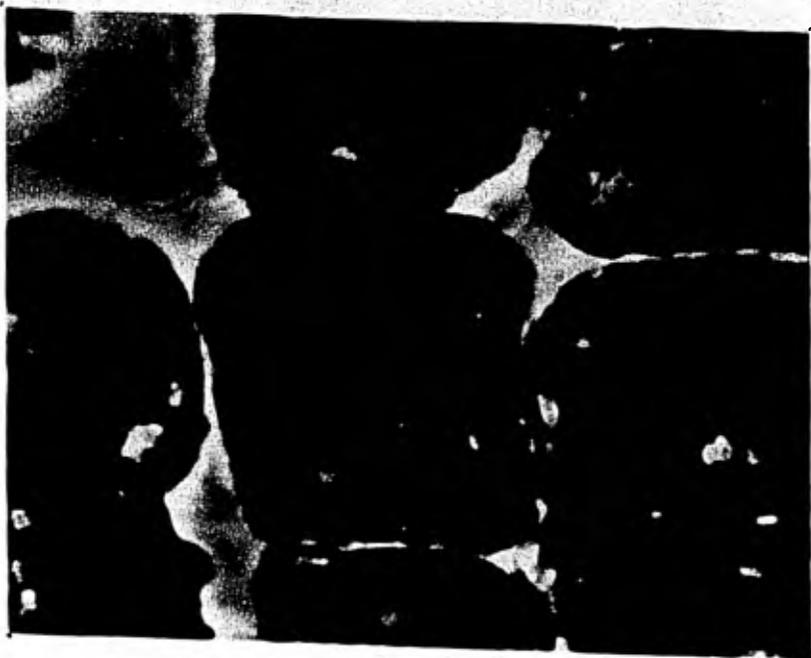


Figura 4. Células tetraploides del ápice radicular de *C. coronata*, tratadas con colchicina  $4 \times 10^{-6}$  M; mostrando un acortamiento de los cromosomas (100X).

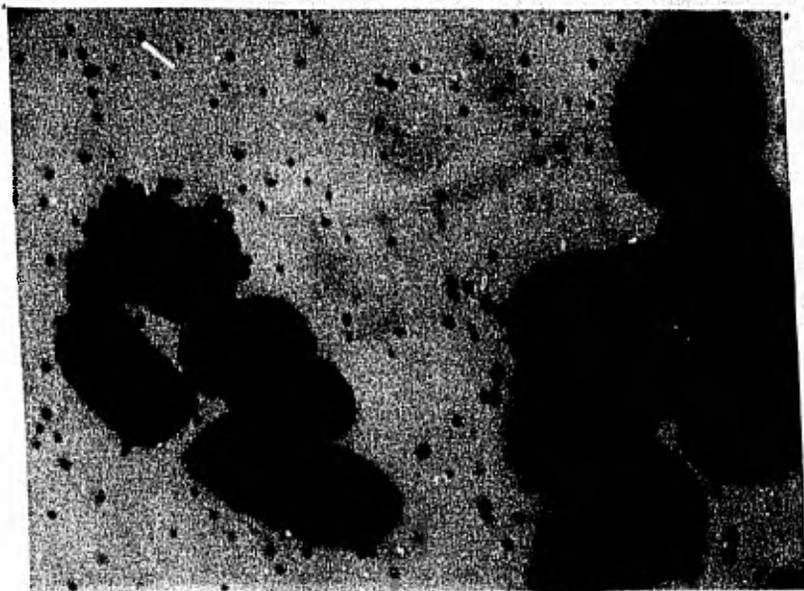


Figura 5. Células meristemáticas de la radícula de *T. corchorum* mostrando granos precipitados por la radiactividad presente en núcleos interfásicos (ni) y en cromosomas anafásicos (a). Los granos encontrados fuera de las estructuras radiactivas son denominados "background" o granos inespecíficos. (10X).

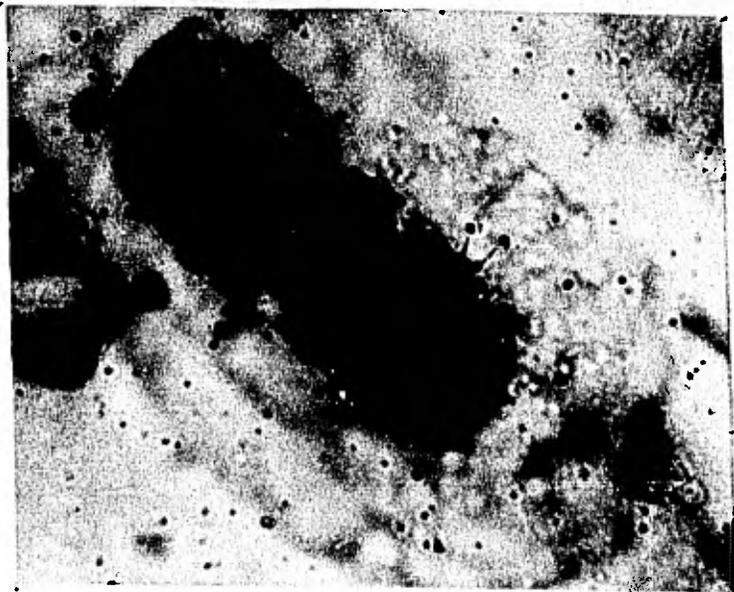


Figura 6. Autorradiografía de una célula meristemática de la raíz de T. cornubora, que corresponde a 6 horas después del pulso de timidina tritiada. Los cromosomas (cr) se confunden con los granos (c)-precipitados por la radiactividad. (40X).

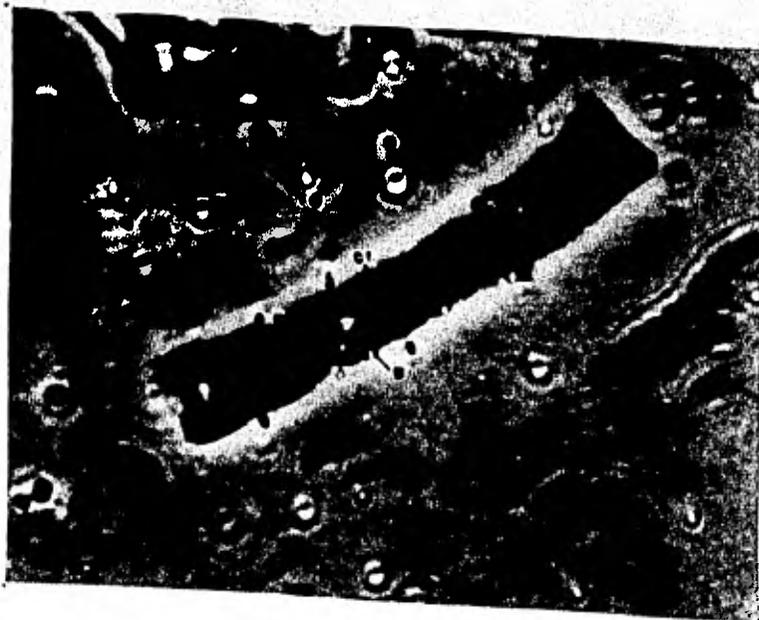


Figura 7. Autorradiografía de una célula pristerótica de *T. coccinella*, en anafase, con los granos de plata precipitados sobre los cromosomas que se dirigen a los polos de la célula (100X).