

INDICE MITOTICO Y DE FASES EN EL MERISTEMO RADICULAR DE *ALLIUM PORRUM* L. «PORO»

JAVIER LATOURE SANCHEZ (1),
HUGO GONZALES FIGUEROA (1),
FERNANDO RETUERTO PRIETO (2).

(1) Lab. de Biología del Desarrollo, Instituto de Investigación, Univ. Ricardo Palma. Apto. Postal 18-38 Lima-Perú
(2) Lab. de Biología Celular, Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Apto. Postal 14-0216 Lima-Perú.

RESUMEN

Se han determinado los índices mitótico y de fases de *Allium porrum* «poro» cultivados en condiciones de laboratorio (18-20°C). Se utilizaron meristemos radiculares de 2-3mm de longitud, los cuales fueron procesados mediante la técnica del aplastamiento «squash» y coloreados con orceina-acetoclorhidrica (2%).

El índice mitótico para *A. porrum* fué de 7.83% y los índices de fase: profase (49.94%), metafase (12.22%), anafase (4.59%), telofase (33.25%) respectivamente. Se observó la presencia de figuras mitóticas modificadas como: metafases alteradas (3.37%), puentes anafásicos (4.49%), y puentes telofásicos (1.39%), que representan el 0.084% de la población meristemática total.

Estos resultados demuestran que el ciclo celular de *A. porrum* es dinámico y constante; y podría constituir un modelo «centinela» alternativo para estudios de cinética celular y toxicidad ambiental.

PALABRAS CLAVE: Mitosis, ciclo celular.

SUMMARY

Mitotic and phases index in *Allium porrum* meristems cells, have been determined. The bulbs were grown in the dark at 18° - 20°C. Squashes were prepared from the terminal (2mm) of the roots. In all cases HCl-acetic orcein was used to stain nuclei.

A. porrum mitotic index was 7.83% and phases index were: prophase (49.94%), metaphase (12.22%), anaphase (4.59%) and telophase (33.25%); anormal mitotic figures were observed such as altered metaphase (3.37%), anaphasic bridges (4.49%) and telophasic brigdes (1.39%), these represent 0.084% of total meristemetic population.

These results indicate that *A. porrum* has a dynamic and constant cell cycle, and the root meristems will using as an alternative model for cell kinetic and environmental toxicology studies.

KEY WORD: Mitotic, cell cycle.

INTRODUCCION.

En las plantas superiores los meristemos proliferan siguiendo una cinética en equilibrio dinámico, la que puede evaluarse a través de una serie de indicadores tales como: la velocidad de crecimiento, la población de células en división celular, la duración del ciclo celular, el índice mitótico y la frecuencia de células en los diferentes estados morfológicos, entre otros (López-Sáez, 1966).

Los meristemos de liliáceas son frecuentemente utilizados para estudios de la dinámica celular porque constituyen un sistema «in vitro» ideal (Giménez-Martin 1977); así como para estudiar los mecanismos regulatorios que afectan el ciclo celular (Rosth, 1977).

En este tipo de modelos se puede cuantificar los efectos producidos por sustancias antimitóticas, citotóxicas y genotóxicas que alteran el ciclo celular e inducen la aparición de figuras mitóticas (Sato, 1970), e incluso ocasionan daños a nivel cromosómico (Giménez-Abián y De la Torre, 1992), determinar el efecto de metales

pesados como Cd, Mo, Pb, y su repercusión en la producción agropecuaria y en la salud del hombre (Leyton *et. al.*, 1992).

En el presente trabajo se demuestra que la proliferación celular en los meristemos radiculares de *A. porrum*, a juzgar por el índice mitótico, es dinámica y constante por lo que puede constituir un modelo alternativo para estudios de la proliferación celular e indicador importante en el monitoreo ambiental.

MATERIALES Y METODOS.

Los bulbos de *A. porrum* se obtuvieron en los mercados de abastos de Lima seleccionándose aquellos que tenían entre 15-25 gr. de peso; y se cultivaron en recipientes de vidrio de 80ml de capacidad con agua de caño previamente filtrada la cual era renovada cada 24 horas y se mantuvo a una temperatura de 18-20° C, hasta que las raíces adquirieran una longitud de 20-30mm.

Para las preparaciones citológicas se utiliza ápices radiculares de las raíces cultivadas de 2-3mm de longitud, las que fueron fijadas en una mezcla de etanol-ácido acético (3:1), coloreados con orceína acetoclorhídrica (2%) y esparcidos en la lámina portaobjeto mediante la técnica del aplastamiento «squash».

Se observaron de 1250 a 3260 células por lámina en un microscopio de campo claro a 400X, para luego determinar los índices mitótico y de fases; y el porcentaje de figuras mitóticas alteradas en la población meristemática.

El índice mitótico se determina sumando los diferentes estados morfológicos de la mitosis multiplicados por 100 y divididos entre el número total de células meristemáticas.

Los índices de fases (profase, metafase, anafase, telofase) se calculan multiplicando el número de células de cada fase por 100 y dividiéndolos con el total de células en mitosis (López-Sáez, 1965).

Para el cálculo de las figuras mitóticas anormales se multiplica por 100 al total de alteraciones de cada fase y se divide entre el total de cada fase normal.

Tabla 1. Células Meristemáticas en División de *A. porrum*

Fase del Ciclo Celular		Nº de Células
Mitosis	Interfase	22814
	Profase	969
	Metafase	237
	Anafase	89
	Telofase	645
Figuras Mitóticas Alteradas	Metafases Alteradas	8
	Puentes Anafásicos	4
	Puentes Telofásicos	9
TOTAL		24753

Tabla 2. Índice Mitótico y de Fases en meristemos radiculares de *A. porrum*.

Índice Mitótico		7.38%
Índice de Fases	Profase	49.94%
	Metafase	12.22%
	Anafase	4.59%
	Telofase	33.25%

RESULTADOS.

Se contaron un total de 24753 células meristemáticas de las cuales 1940 estuvieron en mitosis y 21 células presentaban figuras mitóticas alteradas. (Fig. 1,2).

El índice mitótico parcial (Tabla 2) fué de 7.83%; los valores obtenidos para los índices de fase fueron: profase (49.94%), metafase (12.22%), anafase (4.59%), telofase (33.25%).

Las figuras mitóticas caracterizadas como alteraciones representan el 0.084% de la población meristemática total (Tabla 3). De la cuales 3.37% corresponden a metafases alteradas, 4.49% a puentes anafásicos y 1.39% a puentes telofásicos (fig. 1b, 2b).

DISCUSION.

Los meristemos radiculares de los bulbos de las liliáceas constituyen un sistema *in vitro* ideal que hace

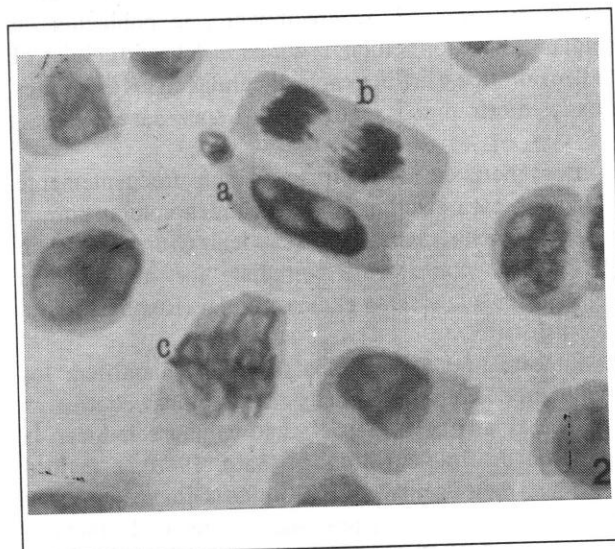
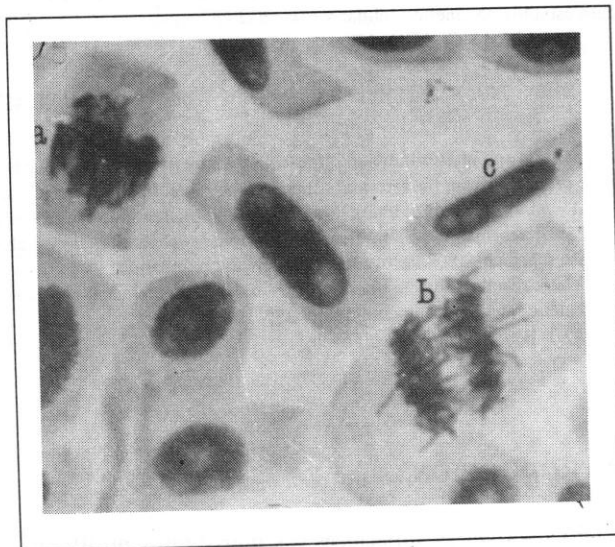


Tabla 3. Porcentaje de figuras mitóticas alteradas en meristemas radiculares de *A. porrum*

Figuras Mitóticas	# Células	% en c/fase	%Pb.M.T.
Metafasas Alteradas	8	3.37	0.084
Puentes Anafásicos	4	4.49	
Puentes Telofásicos	9	1.39	

% en c/fase : Porcentaje de alteraciones en cada fase de la mitosis.

% Pb.M.T. : Porcentaje de alteraciones en la Población Meristemática Total.

posible monitorear sustancias del macro y microambiente y su impacto sobre los puntos reguladores del ciclo de proliferación celular (Shehab, 1972; De Cólus *et. al*; 1992).

En este contexto, es importante conocer la dinámica celular de liliáceas, como el *A. porrum*, que podrían servir como indicadores importantes en estudios de monitoreo y evaluación del impacto ambiental.

En *Allium cepa* el índice mitótico determinado es 13.0 % (López-Saéz, *et. al.*, 1966), en relación al encontrado en *A. porrum* que es de 7.83 %; esta diferencia porcentual global es aparente, puesto que la sincronía de la población en división celular, es idéntica en ambas especies. Así tenemos que el acumulo de células en profase, es 49.94% en *A. porrum* y de 47.0 % en *A. cepa*, el índice metafásico para *A. porrum* (12.22%) y *A. cepa* (13.0 %) es muy similar. Así mismo, se acumulan en anafase una menor cantidad de células, con respecto a las otras fases, tanto *A. porrum* (4.59 %) como en *A. cepa*. (9,5 %). El porcentaje de células en telofase es casi el mismo en *A. porrum* (33.25 %) y en *A. cepa* (30.0 %). Los índices de fases indican la existencia de una sincronía, equilibrio dinámico de multiplicación celular y una permanencia de todos los parámetros del ciclo mitótico (Giménez-Martín *et. al*, 1977).

La acumulación celular en la diferentes fases del ciclo mitótico de *A. porrum*, similar a los de *A. cepa*, significaría que la actividad proliferativa del meristemo radicular en la especie estudiada, se encuentra en equilibrio dinámico, y los valores obtenidos muestran, sólo, una particularidad del proceso proliferativo de ambas especies.

La presencia de algunas figuras mitóticas anormales propias del proceso de proliferación celular ocupan un 0.048% de la población meristemática total no influyen en forma significativa en el ciclo de división celular.

Estos resultados preliminares indican a *A. porrum* como un indicador importante para estudios causa-efecto de los componentes del macro y microambiente y como modelo alternativo en programas de evaluación del impacto ambiental.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- GIMENEZ-MARTIN, G., C. De la TORRE, & J.F. LOPEZ-SAEZ . 1977. *Cell division in higher plants*. In Rost T. (ed): Mechanism and control of cell division. Pennsylvania, pp 261-307.
- GIMENEZ-MARTIN, G., & C. De la TORRE. 1992. La capacidad rompedora de cromosomas como indicador de genotoxicidad. El uso de hidracina maleica para optimizar el poder de resolución de este ensayo en *Allium cepa* L: V Congreso Iberoamericano de Biología Celular, pp 85.
- LERDA, D. 1992. Los efectos del plomo sobre meristemas de *Allium cepa* L. : V Congreso Iberoamericano de Biología Celular, pp. 168.
- LEYTON, C., D.FERRADA, L. OCHOA, & I. PEPPER. 1992. Efecto biológico (ciclotoxicidad) de metales pesados, evaluados en raíces de *Allium cepa* L. : V Congreso Iberoamericano de Biología Celular, pp 87.
- LOPEZ-SAEZ, J.F., & E.FERNANDEZ-GOMEZ. 1965. Mitotic partial index and phase indices. *Experientia*, 21:591-592.
- LOPEZ-SAEZ, J.F., G. GIMENEZ-MARTIN, & A. GONZALES-FERNANDES. 1966. Duration of the cell division cycle and its dependence on temperature. *Zeits Zellforsch*, 75: 591-600.
- PAIXAO, C.A.A. NORMA, FERRARI, IRIS, LUNA, & HELENA F. 1989. Genotoxicidade do cloreto de mercúrio : IX Congreso Latinoamericano de Genética, II Congreso Peruano de Genética, pp 184.
- ROSTH, T. H. 1977. *Response of the plant cell cycle to stress*. In Mechanisms and control of cell division. Ed. Thomas L. Ross Inc. Stroudsburg Pennsylvania, pp. 111-143.
- SATO, S. 1970. Electron microscopy on mitotic and chromosomal aberrations induced by colchicine, mercaptoethanol and nitrogen mustard. *Cytologia*, 35: 415-422.
- SHEHAB, A.S. 1980. Cytological effects of medicinal plants in Qatar II. Mitotic effects of water extract of *Teaucium pilosum* on *Allium cepa*. *Cytologia*, 45: 57-64.
- SHEHAB, A.S. 1980. Comparative cytological studies of the effect of some aliphatic alcohols and the fatty alcohols from *Euphorbia granulata* and *Pulicaria crispa* on mitosis of *Allium cepa*. *Cytologia*, 45: 507-513,
- VENEGAS, W. I. HERMOSILLA, M.E. ALMONACID, & V. VENEGAS. 1989. Efectos genotóxicos y teratogénicos del pentaclorofenol, contaminante de aguas continentales del sur de Chile. IX Congreso Latinoamericano de Genética, II Congreso Peruano de Genética, pp 195.