

**EFEECTO DE LA COLCHICINA EN EMBRIONES DE POLLO
COMO MEDIO PARA OBTENER UN POLIPLOIDE.**

Por

ELIUD CANTU CAVAZOS.

Tesis

FECHA DE ADQUISICION _____
NUM. DE INVENTARIO _____
PROVENIENCIA DONACION
NUM. DE CATEGORIZACION _____
CONCEPTO _____

que Somete a la consideración del H. Jurado Examinador como-
Requisito Parcial para Obtener el Título de Ingeniero Agrón~~o~~
mo.

Aprobada:

El Presidente del Jurado.

El Director de la Escuela.

**ESCUELA SUPERIOR DE AGRICULTURA
"ANTONIO NARRO"**

Buonavista, Coah., Marzo de 1954.

El autor nació en Brownsville, Texas, el día 7 de mayo - de 1930, siendo sus padres los señores Enrique Cantá Echazo-- rreta y Guadalupe Cavazos de Cantá.

Cursó su instrucción primaria en la Escuela Anexa a la - Normal en Saltillo, Coahuila, en los años de 1937 a 1943, y la secundaria en el mismo plantel desde 1943 a 1946.

En el siguiente año, 1947, ingresó a la Escuela Superior de Agricultura "Antonio Narro" para hacer la carrera de ingeniero agrónomo, recibiendo su título de pasante en febrero de 1954.

AGRADECIMIENTO.

torio de Genética de la Escuela Superior de --
ntonio Narro".

berto Rodríguez D., y Profesores Cleotilde Vi-
el Gámiz Yzurieta y Virgilio Morelos, por las-
que brindaron al autor para la formulación de-

TABLA DE CONTENIDO.

Página

BIOGRAFIA	1
AGRADECIMIENTO	1
INTRODUCCION	1
REVISION DE LITERATURA	1
MATERIAL Y METODO	1
1. Preparación de las piezas	1
2. Deshidratación de las piezas	1
3. Inclusión	1
RESULTADOS	1
DISCUSION	2
CONCLUSIONES	2
LITERATURA CITADA	2

Normalmente la condición cromosómica de las células animales y vegetales es la diploide. Esta condición puede volverse poliploide, en la Naturaleza, sólo dos factores pueden ser fuentes del número supernormal de cromosomas: la duplicación del número de éstos en las células somáticas, y la duplicación de los mismos en las células germinales, determinándose un múltiplo del número "n" de los cromosomas. Estas dos condiciones pueden ocurrir espontáneamente, aunque se ha demostrado que también se las puede determinar de manera artificial, e incluso puede hacerse que los nuevos elementos poliploides produzcan otros nuevos tipos de poliploides al repetirse los cambios fundamentales en el medio, o mediante la autofecundación de los poliploides; o mediante ciertas cruces en las que uno o los dos progenitores son poliploides.

Si espontánea o artificialmente ocurre durante la meiosis alguna alteración en la formación de los gametos pueden desarrollarse gametos masculinos o femeninos $2n$, y si se unen estos gametos se producirá un tetraploide. Si uno de los gametos es $2n$ y el otro es normalmente haploide, resultará, de su unión, un triploide. La repetición de la causa determinante puede hacer que se produzcan octaploides, en el primer caso, y hexaploides en el segundo.

Así pues, la división del núcleo sin la consiguiente división de la célula, puede ser provocada por cambios en el medio que rodea a la célula, como lo son o pueden ser los cambios bruscos de la temperatura, heridas, narcóticos, bacterias,

rias, hongos, virus, insectos, alcaloides, y otras sustancias químicas; y por cambios en la presión osmótica y en la radiación.

La estimulación artificial del poliploidismo se hace con dos fines principales, teórico el uno, para el estudio de la formación de los poliploides y otros fenómenos conexos, y - - práctico el otro, como un medio para mejorar las plantas cultivadas y quizá algunas especies animales.

Hasta ahora, la mayoría de las modificaciones realizadas en vegetales, se ha logrado por medio del alcaloide llamado - colchicina. Los efectos logrados en plantas tratadas con este alcaloide han llegado a ser sorprendentes, en tanto que los - experimentos hechos en animales, especialmente en vertebrados, han sido menos evidentes; como si existiera en las células -- animales alguna condición que inhibiera más o menos parcialmente la respuesta a la colchicina.

La finalidad de este trabajo fué, esencialmente, observar el efecto de la colchicina en embriones de pollos, como un medio para obtener poliploides animales. Secundariamente se - proyectaba obtener aves que en la F-1 pudieran presentar algunos caracteres fisiológicos o morfológicos anormales o supernormales, pretendiendo alguna modificación que pudiera considerarse como de utilidad práctica, es decir, económica.

En resumen, el experimento se dirigió a obtener poliploidismo en animales y vertebrados y observar los resultados de este poliploidismo en forma similar al que se puede obtener - en los vegetales; y aunque el resultado del experimento fué - solamente parcial, supone su autor haber contribuido con al--

gún conocimiento a la cría y explotación de las gallinas; conocimiento que puede abrir la puerta a futuros ensayos que quizá puedan conducir a resultados más satisfactorios.

REVISION DE LITERATURA.

De los estudios practicados sobre el efecto de la colchicina en vegetales y animales parece que las células que están en reposo o en telofase, no son afectadas por el alcaloide; - en cambio, en las que se encuentran en metafase, se han observado marcadas alteraciones en el comportamiento de los cromosomas siendo una de las alteraciones más notables la no aparición del huso acromático (O'Mara, 14) el cual, normalmente, - aparece en la metafase de la división carioquinética, y por - lo tanto, la célula perdura por tiempo considerable en el estado de metafase y sufre cambios que le dan un aspecto anormal. Por el efecto de la colchicina los cromosomas se contraen, - apareciendo cortos y gruesos, y perdiendo la facultad de formar parejas; y si se continúa el tratamiento por tiempo suficientemente largo los cromosomas quedan dispersos en la célula y su número, normalmente diploide, viene a ser tetraploide, por ocurrir su división antes del tiempo en que ocurre la división metafásica; entonces, al ocurrir ésta, se duplica el número de los cromosomas. Aún más, puede suceder que se repitan las divisiones sin que sobrevenga la consiguiente división celular, habiéndose encontrado células de la punta de la raíz - de la cebolla hasta con 500 y 1,000 cromosomas, como resultado del tratamiento con la colchicina.

El descubrimiento de que este alcaloide inducía la duplicación de los cromosomas ha proporcionado a los experimentadores una técnica relativamente eficiente que puede utilizarse en - la producción de especies y variedades vegetales poliploides.

En la revisión hecha por Dermen (5) sobre los métodos de producir poliploides por medio de la colchicina, se presentan 179 citas de literatura sobre este particular, pero a pesar de este número, multiplicado desde entonces, todavía parece difícil valuar con precisión las posibilidades prácticas del uso de la colchicina. Blakeslee (2) dijo en 1939 que "ya se dispone de una oportunidad para producir especies nuevas como y cuando se pidan" y que "las posibilidades encaminadas a obtener nuevas formas de valor económico parecen muy grandes". El mismo Dermen cita a Vávilov quien dijo que "las posibilidades reveladas por la inducción artificial del poliploidismo son inmensas" y que "la Genética estaba ante una nueva era de extensas aplicaciones de hibridación, por lo menos en lo que se refería a las plantas".

La información disponible indica que los poliploides de las especies hortícolas que pueden ser propagadas asexualmente quizá pueden llegar a ser de un valor económico considerable. Los poliploides artificiales son frecuentemente de tamaño más grande y de flores más vistosas que sus progenitores diploides. Los resultados reportados por Ensweller y Brierley (6) en Lilium formosanum, por ejemplo, demuestran la relativa facilidad con que se puede duplicar el número de los cromosomas. Los citados investigadores usaron 20 plantas de L. formosanum de un año de edad a las que quitaron las hojas de la punta cuando el vástago floral alcanzaba una altura de 1.80 a 2.40 metros, y trataron al meristemo apical con una solución de colchicina durante un período de dos horas. De los 31 bulbillos aéreos producidos en las axilas de las hojas, sobre el

apice del tallo engrosado, se obtuvieron 22 poliploides. Estos resultaron con flores, granos de polen y estomas de mucho mayor tamaño que los diploides.

Warnke y Blakeslee (17) obtuvieron tetraploides tratando con colchicina las semillas del tabaco de flor carmesí (Nicotiana glauca) que tiene nueve pares de cromosomas. Los tetraploides obtenidos tenían hojas mucho más grandes y más anchas que los progenitores y alcanzaron un tamaño mayor que éstos y produjeron flores más grandes y más vistosas. Cuando se produjeron octaploides (Smith, 16) de Nicotiana tabacum y N. rustica, que por sí mismo son anfiploides, las plantas resultantes eran más grandes pero presentaron falta general de vigor.

Nebbel y Ruttle () señalaron el valor de las caléndulas, petunias y perritos tetraploides, desarrollados por medio de la colchicina. En varios casos las plantas obtenidas eran más robustas y produjeron flores más vigorosas y más grandes.

Con el resumen anterior es imposible abarcar todas las facetas de la importancia económica del poliploidismo inducido. Se sabe que a veces se ha podido cruzar a numerosas especies y géneros de gramíneas aun cuando tales cruzadas son frecuentemente estériles en un gran porcentaje en la F-1. El desarrollo de zacates perennes de tipo anfiploide con semillas más grandes, apropiados para forraje y para cobertura, por medio de cruza entre especies de Triticum y Agropyron, está siendo investigado en diversas estaciones experimentales.

Blakeslee et al. (2) lograron en menos de un año duplicar el número de los cromosomas de 65 diferentes especies y variedades de plantas de las siguientes familias: Cariofilíceas, --

mo resultado de la aplicación de la solución sobre la superficie.

2. Los tejidos durmientes no son afectados por la colchicina. El tratamiento sólo es de valor, desde el punto de vista práctico, para tejidos que estén en estado activo (somático o sexual) o en ambos tipos de desarrollo de las diversas partes de las plantas.

3. Deben mantenerse las condiciones óptimas del cultivo durante el tratamiento a fin de favorecer la división celular.

4. La duración del tratamiento deberá ser determinado por el tipo de material usado. En general, esta duración depende del tiempo requerido para completar el ciclo de la división celular en el material con que se trabaje.

5. La concentración de la solución de colchicina no debe ser menor del mínimo efectivo ni debe ser tan alta que resulte fatal. Debe determinarse una concentración satisfactoria para cada material.

Como material de trabajo se han empleado con éxito en el tratamiento con colchicina semillas, plantitas recién nacidas, puntas en crecimiento de vástagos o yemas, etc.

Se han hecho aplicaciones con éxito con los siguientes medios: solución en agua, en alcohol rebajado, en pasta de lanolina, solución de agar, glicerina y agua o glicerina y alcohol. Las concentraciones con que se han obtenido resultados varían desde 0.0006 por ciento a 1 por ciento, y la duración del tratamiento que ha resultado afortunada ha variado desde un simple humedecimiento hasta un contacto durante 24 horas. Los má-

todos que han dado buen resultado son los siguientes.

1. Tratamiento de semillas. Se han humedecido o tenido en remojo en la solución de colchicina semillas de datura, cosmos, verdolaga y tabaco (la solución desde 0.2 a 1.6 por ciento). Las semillas pueden sembrarse después del tratamiento y antes que germinen.

2. Tratamiento de plántulas. Plantitas recién nacidas pueden ser bañadas con la solución o se las puede sumergir, cuando se van a trasplantar, en un recipiente de poco fondo o sobre papel filtro empapado en la solución, desde 3 a 30 horas. En cosmos se induce el poliploidismo humedeciendo el suelo entorno y regando las plantitas con solución de 0.02 a 0.1 por ciento después de la germinación pero antes de que emerjan a la superficie.

3. Tratamiento de retoños o yemas. Se pueden tratar las puntas de los retoños jóvenes en plantas herbáceas o leñosas aplicando la solución con un cepillo pasado varias veces o sumergiendo este material en un vaso conteniendo la solución, durante el tiempo necesario.

Se han obtenido buenos resultados con solución de colchicina de 0.5 a 1.0 por ciento en lanolina untada sobre las partes en crecimiento; en plántulas de lino y petunia se ha logrado éxito aplicando con cepillo una solución tibia de colchicina al 1 por ciento en solución de agar al 3 por ciento (1 parte de colchicina al 2 % y 1 parte de agar al 3 %) sobre los puntos de crecimiento.

Aunque el poliploidismo inducido ha sido menos común en -

los animales que en las plantas se ha observado que en los experimentos con colchicina también ocurre en las células animales una inhibición de la formación del huso acromático, aunque por lo común las células tratadas con colchicina no pasan de la metafase al estado de reposo para reiniciar una o más veces la división cromosómica, sino que, en los animales o al menos en una mayoría de los experimentos, las células tratadas degeneran y mueren, fracasando la posibilidad de que ocurra el poliploidismo.

El Dr. Cuger (4) observó (1939) que la colchicina aumenta el tamaño de las células cancerosas haciéndolas visibles con rayos X, y más tarde encontró que una inyección de colchicina en agua destilada producía en las ratas la degeneración y a veces la completa desaparición de los tumores. Se han publicado bastante literatura experimental a este respecto pero parece que no se han realizado observaciones sobre este particular en las clínicas. Los cristales de colchicina funden a una temperatura de 140 grados C. La fórmula empírica usada en la farmacopea norteamericana es $C_{22}H_{25}NO_6$

Los métodos usados en las plantas para inducir el poliploidismo también han sido utilizados con el mismo fin en diversas especies animales. Un ejemplo común en textos de Genética es el de los individuos triploides obtenidos con bajas temperaturas en anfibios tales como la salamandra acuática (Triturus viridescens) y la salamandra japonesa (T. pyrrhogaster). Se asume que la baja temperatura inhibe la segunda división (meiótica) hallándose el óvulo de los referidos anfibios en la metafase de la segunda división de maduración cuando es penetrado

por el espermatozoide. Si los óvulos son sometidos a temperaturas de 0 a 3 grados C., no se produce normalmente la segunda división meiótica. El resultado es un núcleo diploide que, al unirse con el haploide del espermatozoide, forma un núcleo triploide.

Frankenhausen (7) trató con temperaturas bajas (0 a 4.35 grados C., durante 5 a 24 horas) varios centenares de óvulos de cinco especies de anfibios: Triturus viridescens, T. pyrrhogaster, T. similis, Triton taeniatus, y ajolote. En la primera especie obtuvo un 78 por ciento de larvas triploides, en la segunda 44.8 por ciento, y en la última un 34 por ciento.

Blakeslee (2) y Nebel (13) reportaron en 1937, de manera independiente, que se podían obtener valiosos resultados en plantas tratadas con colchicina y desde entonces se han hecho numerosos experimentos en animales vertebrados.

Pincus y Waddington (15), por ejemplo, desarrollaron huevos fecundados de coneja en cultivos de soluciones diluidas de alcohol, éter o colchicina, de diferentes concentraciones y durante variados lapsos de tiempo. De 40 huevos fertilizados 15 eran tetraploides; 13 de ellos habían sido tratados con solución de colchicina, 1 con solución alcohólica y 1 con solución etérea.

Edna Highbee (11) trató embriones de pollo de 24 horas con soluciones de colchicina. De 20 huevos inyectados con 0.02 de c.c. de solución de colchicina al 0.0001 por ciento, obtuvo dos hembras y dos machos. En aquéllas y en éstos las crestas y barbillas eran casi de tamaño doble del normal, y -

en dos de los machos dos de las plumas caudales eran de gran longitud; una de las hembras, tenida junto con uno de los machos, ponía cada dos o tres días huevos infértiles.

El Prof. Häggqvist y el Dr. Bane (9), de Suecia, obtuvieron dos conejos triploides, en una camada, con un peso de 4.0 y 5.1 kilos respectivamente, en comparación con el peso de 3 kilos de los demás hermanos, diploides. Las madres (normales) — habían sido inseminadas artificialmente con semen conteniendo 1 parte de colchicina por 200,000 parte de semen, y produjeron 60 gazapos de los cuales dos presentaban deformidades morfológicas.

Los mismos investigadores, Häggqvist y Bane (9) hicieron varios experimentos en conejos inseminando hembras con semen diluido en solución de Ringer-Loeke conteniendo colchicina en diferentes concentraciones (1 : 27,000 a 1 : 600,000). Sólo en contraron casos de poliploidismo en uno de sus diez experimentos cuando usaron la colchicina a 1 por 450,000.

Harrison (10) en sus experimentos con ratas encontró que en las células poliploides es mayor la cantidad de ácido nucléico que en las células diploides; y Melander (12), zoólogo sueco, encontró que el número diploide de cromosomas en el tejido testicular de cerdos de raza Yorkshire (Large White) es de 38 y el número haploide es de 19 mientras que en tres familias examinadas de cerdos criollos de Suecia (Old Swedish) el número diploide sólo era de 30. En los híbridos de ambas razas el número diploide de cromosomas en las células testiculares variaba de 30 a 36. Dicho investigador obtuvo 31 lechones de tres marranas inseminadas con semen mezclado con colchicina.

En uno de estos lechones, al nacer, los eritrocitos eran marcadamente más grandes que los de sus hermanos y medios-hermanos diploides. Más tarde encontró en el lechón mencionado que el número de cromosomas en el tejido testicular era de 47, en comparación con el número característico de 30 a 34 que tenían los hermanos y medios-hermanos. Atribuyó el poliploidismo en el lechón anómalo con 47 cromosomas a la unión de los 15 cromosomas del espermatozoide del padre (un verraco Old Swedish) -- con 32 cromosomas de la madre, resultantes de la duplicación de sus 16 cromosomas por la acción de la colchicina, que inhibió la segunda división meiótica.

Beatty (1), en una revisión del heteroploidismo en los mamíferos, cita los siguientes casos: (1) En ratones (número diploide 40) un caso haploide, espontáneo; numerosos casos triploides, espontáneos y artificiales, y varios tetraploides. -- (2) En conejos, además de los casos ya citados de Pincus y Waddington, cita a Chang quien, inseminando conejas con espermatozoos suspendidos en solución de colchicina al milésimo, obtuvo triploides y tetraploides y algunas otras anomalías. (3) En cerdos, cita los experimentos de Häggqvist y Bane, y hace presente la variabilidad del número de cromosomas en las distintas razas: 30 en la raza Old Swedish, 30 a 36 en los híbridos de Yorkshire Large White y Old Swedish, 38 en la Yorkshire y en la Landschwein mejorada y en el cerdo criollo alemán, y 40 en Beatty -- concluye que en los resultados obtenidos en conejos y cerdos -- por los investigadores suecos mencionados (Melander y Häggqvist y Bane) que es posible que el poliploidismo pudo haber sido determinado por la colchicina pero que siendo tan reducido el --

número de casos cabría pensar si no se trató en ellos, en realidad, de un heteroploidismo espontáneo, y hace notar a este respecto que no es raro este fenómeno en los animales cuando son muy jóvenes pero que, al avanzar en edad, se vuelven gradualmente diploides.

Es evidente, pues, que el heteroploidismo artificial se encuentra todavía, al menos desde un punto de vista práctico, en una fase experimental, aunque esto no aleja la posibilidad de obtener variaciones favorables en la cría de los animales domésticos.

MATERIAL Y METODO.

Para la ejecución de este trabajo se usaron los siguientes materiales: (1) Una incubadora eléctrica, debidamente acondicionada; (2) 100 huevos, escogidos y seleccionados, de cuatro razas diferentes de gallinas: White Leghorn, Plymouth Rock Barrada, White Rock y New Hampshire; (3) Un gramo de colchicina en polvo con la que se prepararon dos soluciones acuosas, - al 1 por 1000 y 1 por 10,000; (4) material para hacer inclusiones, cortes y observaciones al microscopio.

Antes de introducir los huevos en la incubadora, que ya estaba dispuesta para el caso, se procedió a tratar a 40 de los 100 huevos con colchicina en la siguiente forma: 30 fueron bañados en solución del colchicina al milésimo durante un minuto, y 10 fueron inyectados con la solución al 1 por 10,000, - aplicando a cada uno de ellos un décimo de centímetro cúbico - por medio de una jeringa veterinaria de las que se usan para inyecciones intradérmicas (graduada en décimos de centímetro cúbico). El pequeño orificio de la perforación de la aguja inyectora en el cascarón de los huevos se obturó con una gota de cera fundida y sobre ésta se puso una ligera capa de colodión - a fin de evitar que con el rozamiento entre los huevos se desprendiera la capa de cera. Los otros 60 huevos se dejaron incubando, para ser tratados posteriormente. Las operaciones aludidas y la incubación dieron principio el día 15 de febrero de 1953 a las 9.25 horas.

A los cinco días de incubación (20 de febrero) se observó a los huevos tratados con colchicina por medio del ovoscopio -

viéndose en algunos el desarrollo normal del embrión. Ese día se procedió a tratar a 30 de los 60 huevos (no tratados antes) en la siguiente forma: 15 fueron bañados con la solución al milésimo durante dos minutos; 15 fueron inyectados con un décimo de centímetro cúbico de la solución de colchicina al 1 por 1000, y 5 se inyectaron con la misma dosis de solución de colchicina al 1 por 100. Los 25 huevos restantes se dejaron como testigos.

A los nueve días de incubación (24 de febrero) se hizo un miraje de los huevos al ovoscopio y se encontró lo siguiente:-- embriones muertos en 17 de los 30 huevos bañados con la solución de colchicina y en 3 de los 10 huevos inyectados el 15 de febrero, y 1 embrión muerto entre los 15 huevos inyectados el 20 de febrero.

Todos los huevos con embriones muertos fueron retirados ese día de la incubadora y llevados al laboratorio donde se rompieron cuidadosamente los cascarones haciendo esta operación dentro de una cápsula grande de porcelana semi-llena de solución salinizada, para una mejor conservación de los embriones mientras se hacía la extracción. Después se puso a una parte de los embriones muertos en un tubo de ensaye conteniendo la solución llamada Carnoil compuesta de 3 partes de cloroformo, 6 partes de alcohol absoluto y 1 parte de ácido acético glacial. El resto de los embriones fueron puestos cada uno en tubitos de ensaye conteniendo solución de formol al 6 por ciento.

Este trabajo se hizo durante los días 25, 26 y 27 de febrero, y el último día de este mes y los primeros cuatro días de marzo se dedicaron a hacer inclusiones de los embriones, pa

ra hacer cortes con el microtomo, de acuerdo con la siguiente-técnica.

1. Preparación de las piezas (embriones) en solución de formol al 10 por ciento, durante 12 a 24 horas.

2. Deshidratación de las piezas comenzando con alcohol de 50 grados y sucesivamente de 75 grados y de 96 grados. Las piezas grandes fueron dejadas 12 horas y las piezas chicas 4 horas en cada tipo de alcohol.

3. Inclusión. Se partió de una suspensión de parafina debajo punto de fusión (52o) en xilol (saturado). Se colocó a los embriones en el xilol con una poca de parafina y se fué agregando parafina en pequeñas porciones, de vez en cuando, hasta llegar al grado de saturación. Este trabajo se llevó a cabo dentro de la estufa a una temperatura de 56 grados C., extrayendo el vaso de precipitado cada vez que se agregaba la parafina. Se dejaron las piezas por 3 horas, después de la saturación del xilol con parafina, y se procedió luego a ponerlos en pequeños moldes de papel, agregándoles parafina fundida. Se conservaron todavía en la estufa, a la misma temperatura citada, y después del tiempo indicado se les cambió rápidamente a un refrigerador donde se les dejó mientras se hacían los cortes.

El método de preparación y de fijación y colocación de los cortes de los embriones (hechos en el microtomo) y puestos en porta-objetos para su observación, se hizo como sigue. Los cortes, al salir del microtomo, se recibieron en una cápsula de porcelana conteniendo agua tibia; se pusieron en los portaobjetos y se les adicionó xilol para disolver la parafina. Se pu

sieron las preparaciones por dos minutos en la estufa de cultivo a 56 grados C., y una vez ya secos se les tiñó con hematoxilina y después de lavarlos con agua se les tuvo otros tres minutos en la estufa y en seguida se les tiñó con eosina dejando obrar a este colorante durante tres minutos después de lo cual se deshidrataron con alcohol y luego con xilol, poniéndoles finalmente una gota de aceite de pino y un cubre-objeto, quedando listos así para la observación al microscopio.

Mientras se hacían estos trabajos proseguía la incubación. El 7 de marzo comenzaron a nacer los pollitos siendo el primero, según la marca señalada en el cascarón, un pollo Leghorn de uno de los huevos inyectados con la solución de colchicina. Este pollito nació 30 horas antes que los demás. El resto de pollitos logrados, que fueron 25, nacieron en la noche del día 8 de marzo. Los restantes, que fueron 53, picaron el cascarón pero murieron.

En resumen, de los 79 huevos que quedaron después de haber retirado el 24 de febrero los embriones muertos, se lograron 26 pollitos o sea aproximadamente un 33 por ciento.

RESULTADOS.

De manera parcial se han reseñado algunos de los resultados del experimento al describir el método del mismo, ya que, según se dijo, desde el primer miraje de los huevos en incubación hubo que descartar algunos de éstos, contándose entre ellos cierto número de testigos y algunos más de los que habían sido tratados con la solución de colchicina al 1 por 1000 y al 1 por 10,000.

De los 26 pollitos obtenidos en la incubación un 35 por ciento procedían de los huevos tratados con las soluciones mencionadas. Estos pollitos no presentaron ninguna anomalía que los distinguiera de los testigos, ni cuando nacieron ni aún algunas semanas después. La única diferencia encontrada fué que los pollitos procedentes de los huevos inyectados o bañados con la solución de colchicina crecieron comparativamente con mayor rapidez que los testigos hasta la edad aproximada de tres meses. En ese tiempo su peso era como de un tercio o más aún superior al de los testigos; pero al llegar hacia los tres meses de edad pareció como si en estos pollitos se hubiera atenuado la mayor velocidad del crecimiento, siendo alcanzados entonces, en cuanto a desarrollo y peso, por los pollitos procedentes de los huevos testigos.

Por circunstancias diferentes tuvo que lamentarse la pérdida de la mayoría de los pollos procedentes de los huevos tratados y solamente dos llegaron a la edad adulta, un gallo y una gallina. Con estas dos aves se tiene proyectado proseguir el experimento hasta la segunda generación filial, o más

adelante aún. El objeto de continuar el experimento consiste en investigar si estas dos aves son fértiles entre sí o con otras aves de los correspondientes sexos opuestos. Hasta la fecha aún no han obtenido resultados al respecto.

En cuanto a la duplicación del número de cromosomas en las células de los embriones investigados, que fué el objetivo principal del experimento, puede decirse que el resultado fué completamente negativo. Aún cuando se observó dislocación de los cromosomas en los cortes examinados al microscopio, no fué posible encontrar en ninguna de las células algún signo de poliploidismo.

La colchicina tuvo en algunos embriones un aparente efecto mortal, pues en los cortes histológicos observados aparecieron unos embriones completamente deformados o con áreas disociadas. La colchicina obró al parecer en estos embriones como un agente de desintegración parcial; en cambio, los demás embriones tratados, aparecieron normales, en todo semejantes a los procedentes de los huevos testigos.

DISCUSION.

No obstante que en la literatura se citan casos de animales de algunas especies domésticas (cerdos, conejos, gallinas y de anfibios, en los que se logró inducir el poliploidismo - por medio de la colchicina, en el experimento de que se ocupa esta tesis no solo no se encontraron modificaciones fenotípicas en las aves obtenidas de los huevos tratados con el alcaloide mencionado, sino que tampoco se encontró ningún signo - de poliploidismo en las células de los embriones que murieron en el curso de la incubación.

El posible efecto letal y desintegrante que pudo haber - tenido la colchicina sobre algunos embriones resulta aparentemente inexplicable; en primer lugar, porque este efecto sólo - se observó en un corto número de embriones mientras que en -- los demás no se observó dicho efecto; y en segundo lugar, por que no se usaron dosis que pudieran considerarse tóxicas, sino al contrario, pues se usaron las mismas soluciones que se han utilizado en otros experimentos con animales y que normalmente se han empleado en experimentos con plantas. Si las dosis usadas hubieran sido positivamente letales no se habría logrado - ningún pollito, y además todos los embriones observados al mi - croscopio habrían aparecido igualmente disociados o deformes. No sucedió así, pues se lograron como ya se dijo algunas aves vivas, y de los embriones examinados un buen número presenta - ban una evolución normal, sin dislocaciones ni signos de de - - sintegración.

De lo anterior puede deducirse que hubo alguna causa que

se asoció al efecto de la colchicina, o que quizá fue ajena a ella, y que determinó en algunos embriones su deformidad y -- desintegración. Y el hecho de haber obtenido aves vivas y aparentemente normales de algunos de los huevos tratados con la colchicina, impide afirmar de manera categórica, que las soluciones usadas tuvieron un efecto tóxico o letal. En realidad los resultados del uso de la colchicina sobre huevos de gallina en incubación fueron disímolos, y si en unos casos pudo atribuirsele un efecto letal o tóxico, en otros en cambio pareció tener un efecto temporalmente estimulante pues sólo de esta manera puede explicarse el rápido desarrollo que por algún tiempo presentaron los pollos procedentes de los huevos -- tratados, en comparación con el de los procedentes de los -- huevos testigos.

CONCLUSIONES.

El uso de las soluciones de colchicina al 1 por 1,000 y al 1 por 10,000 sobre huevos de gallina en incubación, en forma de baño o de inoculación, no produjo ningún signo aparente de poliploidismo, según se dedujo de la observación al microscopio de los cortes histológicos de algunos embriones de dicho huevos, y los cuales embriones murieron en el curso de la incubación.

El número de cromosomas de las células somáticas de los embriones muertos era igual en los de embriones de los huevos testigos y en los de los huevos tratados con colchicina. Por lo diminuto de los embriones de que se hicieron cortes histológicos no pudieron hacerse observaciones al microscopio de las células de los órganos sexuales.

En algunos de los cortes histológicos de embriones de huevos tratados con colchicina se observó visible dislocación y desintegración de sus órganos, como si el alcaloide hubiera tenido en ellos un efecto tóxico o letal, mientras que los otros embriones, también de huevos tratados, aparecieron normales, sin signos de desintegración.

Los métodos de tratamiento usados fueron los de bañar o inyectar los huevos antes de la incubación y al quinto día de la incubación. Quizá pudieran haberse obtenido otros resultados si se hubiera ensayado algún otro método de tratamiento, como por ejemplo, inseminar a las gallinas con semen suspendido en una solución de colchicina.

De los huevos incubados y tratados se obtuvieron varios pollitos vivos y aparentemente normales, es decir, sin ningún

alteración o modificación fenotípica. De estos pollitos dos llegaron a la edad adulta, y se espera observar su comportamiento en el futuro, y, de ser posible, el de sus descendientes; vista la posibilidad de que la colchicina, como ha ocurrido en ciertos casos, tenga no un efecto inmediato sino más lejano, en generaciones posteriores.

Sin excepción todos los pollitos procedentes de huevos-tratados con colchicina se desarrollaron más rápidamente y su peso fué superior al de los pollitos procedentes de los huevos testigos pero solamente hasta la edad de unos tres meses. Después de esta edad todos aparecieron en igual condición de desarrollo y peso. Es de creerse que se necesitarían nuevos-experimentos usando todos los métodos posibles y diferentes concentraciones de colchicina para poder determinar si este alcaloide es tóxico o no y si puede atribuirsele la facultad de estimular, cuando menos temporalmente, el desarrollo y crecimiento de los pollos, o algún otro efecto que pudiera considerarse de utilidad en la práctica.

LITERATURA CITADA.

1. Beatty, R. A. Heteroploidy in Mammals. *Animal Breeding Abstracts* Vol. 19 No. 3, 284-290, sep. 1951.
2. Blakeslee, A. F. Chromosomal Interchange. *Cytology, Genetics and Evolution*, 37-46, 1941.
3. Blakeslee, A. F. and J. Belling and M. E. Farnham. A Haploid Mutant in Jimson Weed. *Science*, 52, 646-647, 1922.
- 4.-Cuger, H. A. Cytological Study of Colchicine Effects in the Induction of Polyploidy in Animals. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 24, 56-63, 1938.
5. Dermen, H. Colchicine Polyploidy and Technique. *Bot. Rev.*, 599-635, 1940.
6. Elmsweller, W. E. Sex in Relation to Chromosomes and Genes. *Amer. Natur.* 59, 127-137, 1945.
7. Fankenhause, G. The Effects of Change in Chromosome Number on Amphibian Development. *Quart. Rev. Biol.*, 20, -- 20-78, 1945.
8. Häggqvist, G. and A. Bane. Polyploidy in Rabbits, Induced by Colchicine. *Nature (London)* 165, 841-843, 1950.
9. Häggqvist, G. Studies in Triploid Rabbit Produced by Colchicine. *Hereditas*, 36, 329-334, 1950.
10. Harrison, M. E. Triploidy and Haploidy in the Rat. *Nature*, 168, 248-249, 1951.
- 11.-Higbee, Edna, Some Results of Colchicine Injection. *Science*, vol. 92 No. 2378, 1939.
12. Melander, G. Polyploidy after Colchicine Treatment of Pigs. *Hereditas* 37, 288-289, 1951.
13. Nebbel, B. R. and M. L. Ruttle. Colchicine and its Place in Fruit Breeding N. Y. State Agric. Exp. Sta. Circ. -- 193, 1938.
14. O'Mara, A. The Evolutionary Significance of Autopolyploidy. *Hereditas*, 21, 263-268, 1936.
15. Pincus, G. and C. H. Waddington. The Effects of Mitosis-Inhibiting Treatment on Normally Fertilized Pre-Cleavage Rabbit Eggs. *Jour. of Hered.* 30, 514-518, 1939.
16. Smith, H. H. The Relation Between Genes Affecting Size and Color in Certain Species of Plants. *Genetics*, 22: -

361-375, 1937.

17. Warlike, H. E. and A. F. Blakeslee. Induction of Simple -
and Multiple Polyploidy in Nicotiana by Colchi-
cine Treatment. Jour. of Hered. 30, 418-432, 193