

## La naturaleza química de los cromosomas y del nucleolo

por FRANCISCO ALBERTO SAEZ

Jefe del Laboratorio de Citología de la Facultad de Agronomía  
Universidad de La Plata

*“Sólo con la ayuda de la física molecular  
será posible idear una estructura del  
cromosoma”.* — DOROTHY WRINCH.

El núcleo de la célula es el instrumento que gobierna el desarrollo y multiplicación de todos los organismos, siendo los cromosomas los que distribuyen de célula a célula el sistema genético mediante duplicación de su propia substancia. El extraordinario interés que despierta el estudio de la estructura submicroscópica y química de los cromosomas, radica en el hecho de que estos elementos son los agentes funcionales responsables de los procesos de morfogénesis, sexualidad, herencia, variación y evolución de los seres vivos, y por ello son considerados factores indispensables para el mantenimiento del equilibrio de la materia organizada.

Actualmente el cromosoma se considera formado por un filamento o fibra llamada cromonema, de un diámetro que se halla en el límite de visibilidad microscópica, que adopta mediante un proceso de enrollamiento helicoidal diferentes longitudes de acuerdo a los estadios por que atraviesa durante el ciclo de la división celular.

De acuerdo á la moderna teoría sobre la estructura del cromosoma, es el cromonema el único componente que mantiene su total autonomía en todas las etapas del ciclo cromosómico, ya sea en los núcleos de síntesis o interfase dinámica, o bien durante la división mitótica y meiótica.

Por otra parte, durante la transición de la telofase al estado de interfase, el cromonema pasa por una serie de transformaciones que tienen indudable importancia pues pierden ácido nucléico y por ello afinidad por los colorantes básicos quedando un

esqueleto formado por proteínas, que corresponde al genonema o parte genéticamente activa del cromonema (Frolowa, 1944).

La atención se polarizó hacia la naturaleza de este delgado filamento que aloja los genes distribuidos linealmente a lo largo del mismo. Dada la propiedad inherente del cromonema de poder autoreplicarse longitudinalmente y de poseer cada gene, por lo menos dos puntos o extremidades por medio de las cuales pueden unirse entre sí, uno de los aspectos que más interés despierta es el de su comportamiento y organización química.

### NUCLEOPROTEINAS Y ACIDOS NUCLEICOS

El núcleo de las células vegetales y animales posee además de lipoides y agua dos sustancias esenciales: una proteína básica que puede ser protamina o histona y un ácido nucleico. Estos componentes se hallan combinados formando ligaduras salinas llamadas nucleoproteínas las cuales integran en su mayor parte la cromatina.

Los estudios sobre la composición química del núcleo fueron realizados por Miescher en 1869 y por Kossel en 1891. Posteriormente Levene y sus colaboradores llevaron a cabo una serie de brillantes investigaciones sobre los ácidos nucleicos que pueden considerarse punto de partida para el conocimiento de las propiedades de estos compuestos.

Es conocido el hecho de que el análisis macroquímico de espermatozoides de peces (materia nuclear) arroja una cantidad de 60 % de ácido timonucleico y 35 % de proteínas del grupo de las protaminas. En el salmón hay más de 96 % de nucleato de salmína (nucleoproteína) en sus espermatozoides, existiendo en los glóbulos rojos aislados de este mismo animal, alrededor de 100 % de nucleoproteínas. Las protaminas se encuentran generalmente en los espermatozoides de peces y en el polen y esporos de *Lycopodium*, mientras que las histonas suelen hallarse en otras clases de células. Actualmente se conoce muy poco sobre las proteínas nucleares de los vegetales. Las protaminas son de composición más sencilla que las histonas.

Recientemente se ha descubierto una proteína por Stedman y Stedman (1943) aislada del esperma del bacalao (también en

el vacuno y carcinoma de rata) que ha sido bautizada por estos autores con el nombre de cromosomina. Esta proteína tiene propiedades ácidas y se la ha hallado en proporciones altas como integrante principal de los cromosomas. Las siguientes proporciones ácido nucleico 26-34 %; histona 1,6-16 % cromosomina 50-72,6 %, indican que cuantitativamente es el componente más abundante. Sin embargo este hallazgo ha sido criticado con argumentos tendientes a demostrar su inexistencia como componente principal de los cromosomas. (Barber y Callan, 1944; Callan, 1944, Caspersson, 1944).

Las proteínas están constituidas por cadenas de polipéptidos. Estas cadenas están formadas por la unión de aminoácidos por medio de grupos sucesivos ácidos y aminos de los que resultan las ligaduras peptídicas o carboaminas. Los residuos de aminoácidos están dispuestos de acuerdo a un cierto orden, como sigue: (Fig. 1).

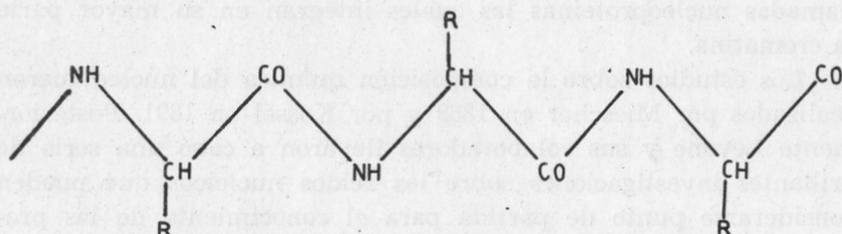


Fig. 1.- Constitución de una cadena de polipéptidos

La manera de unirse las cadenas entre sí ha sido puesta en claro debido a la aplicación de los rayos X, empleados especialmente por Astbury y sus colaboradores. Los roentgenogramas de las keratinas por ejemplo han demostrado que tales proteínas están formadas por cadenas de polipéptidos orientadas según el eje de la fibra (mejor aun cuando está distendida). Lo mismo respecto a otras fibras proteicas como ser la seda, la miosina, las fibras elásticas, etc. Las proteínas fibrosas tienen las cadenas de polipéptidos dispuestas paralelamente y formando fibrillas. Las proteínas globulares y corpusculares tienen según parece las cadenas plegadas, adoptando determinadas configuraciones aunque se presentan también en formas fibrilares.

Los cromosomas son fisiológica y químicamente elementos

que presentan una estructura fibrosa comparable a la que tienen las grandes proteínas inactivas tales como un hilo de seda o un cabello, las cuales están constituidas como se ha dicho por formaciones en cadena de polipéptidos; del mismo modo estarían constituidos los cromosomas o mejor dicho el cromonema. No se descarta la posibilidad de que pudiesen estar formados por proteínas globulares, en lugar de moléculas alargadas como las proteínas fibrosas, aunque es más verosímil que sean de este último tipo.

En los cromosomas hay dos clases de compuestos químicos, proteínas y ácido nucleico, que se encuentran combinados en forma de nucleoproteínas. Es posible que estén formadas por cadenas de polipéptidos y ácido nucleico unidos paralelamente. Es concebible que así sea, puesto que la distancia entre cada una de las unidades o eslabones a lo largo de la cadena es de 0,334 milimicrones para los polipéptidos y de 0,336 milimicrones para el ácido nucleico. Una proteína aislada del esperma de los peces, cuyo nombre es de clupeína, ha mostrado poseer naturaleza fibrosa. Por el estudio de las propiedades ópticas a la luz polarizada se ha demostrado que las fibras proteicas presentan doble refracción positiva, es decir en el sentido de la fibra. El ácido nucleico en cambio, que es donde se encuentran los grupos aplanados, presenta doble refracción negativa en la dirección de la fibra. Por ello es que la refracción negativa con respecto a la dirección de la fibra, que se encuentra en la clupeína (nucleato de clupeína) se debe a la presencia del ácido nucleico. Este fenómeno se constata en los cromosomas que están despiralizados, como los politénicos o los largos filamentos desenrollados de la profase meiótica (estado cigoténico). Cuando los cromosomas se espiralizan hasta adquirir el estado compacto de la metafase somática, de manera que la espiral del cromonema corre perpendicularmente al eje del cromosoma, la doble refracción es positiva con respecto a dicho eje. Contrariamente, la doble refracción se invierte, haciéndose negativa, en el cromosoma metafásico de la división meiótica. Todo esto suministra evidencia en favor de que las cadenas proteicas y de ácido nucleico se hallan paralelamente combinadas formando una fibra compuesta. La ligadura debe ser entre los grupos proteicos y los residuos fosfóricos del ácido nucleico (Fig. 2).

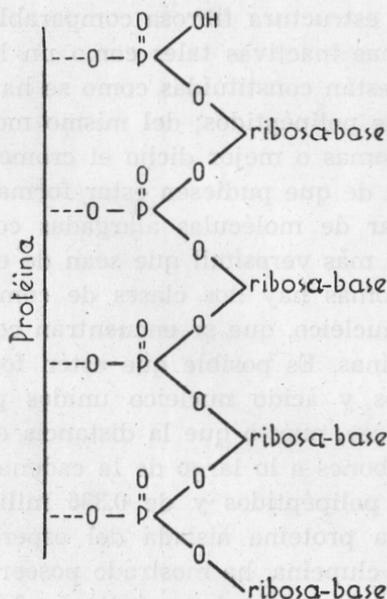


Fig. 2.- Modo posible de disponerse paralelamente las cadenas de proteína y ácido nucleico para constituir las uniones a lo largo del cromosoma. En este caso se ilustra la unión entre el ácido ribonucleico y la proteína de un virus. (Según Serra, 1942)

La bioquímica ha demostrado que las nucleoproteínas son compuestos formados por una proteína y un ácido nucleico. La molécula de ácido nucleico es el resultado de la unión de tres grupos, a saber: una molécula de ácido fosfórico, un núcleo hidrocarbonado y una base nitrogenada heterocíclica. El grupo hidrocarbonado lo constituye una pentosa que puede ser una ribosa (d-ribosa) o su derivado, una desoxiribosa, llamada también ribodesosa (d-ribodesosa).

El tercer compuesto consiste en miembros del grupo de las purinas; adenina y guanina, y por los miembros de la pirimidina: citosina, uracilo y timina. Un ácido nucleico tiene una estructura formada por cuatro cadenas ligadas entre sí por el grupo fosfórico. Son por tanto polinucleótidos constituídos por cuatro nucleótidos, (tetranucleótidos).

Hay dos ácidos nucleicos que se distinguen por el hidrato de

carbono (pentosa) como se verá luego: el desoxiribonucleico y el ribonucleico.

La citoquímica es capaz de poner en evidencia por medio de tres métodos distintos, de acuerdo a sus propiedades características, la existencia de ácidos nucleicos: 1) Por la propiedad de combinarse con los colorantes básicos; 2) Por la susceptibilidad de ser atacados por las encimas que digieren aquellos componentes; 3) Por la identificación revelada por la propiedad que tiene el ácido nucleico de presentar una banda de absorción típica en la región ultravioleta del espectro.

### IDENTIFICACION CITOQUIMICA DEL ACIDO DESOXIRIBONUCLEICO

Debemos a Feulgen (1924) (Saez, 1937) uno de los más efectivos progresos en el análisis citoquímico. El proceso ideado por este investigador ha permitido localizar microquímicamente y con perfecta especificidad la presencia de un ácido, el timonucleico (desoxiribonucleico). Cuando se somete a una moderada hidrólisis, con una solución ácida, a núcleos celulares previamente fijados, éstos desprenden una sustancia que se enrojece cuando se trata por medio de la reacción de Schiff (fuchsin básica decolorada con anhídrido sulfuroso). Tal hecho es debido a que el ácido nucleico presente pierde sus bases purínicas liberando los grupos aldehídicos de dos de las pentosas que se hallan presentes. Eliminados los aldehidos pre-existentes, la reacción pone de manifiesto específicamente el ácido timonucleico. Al principio, este ácido se llamó tímico, por haberse extraído del timo. Después se encontró que algunos de los grupos del compuesto hidrocarbonado eran los que producían la recoloración de la fuchsin (previamente decolorada por anhídrido sulfuroso). Este hecho indujo a Feulgen a interpretar estos grupos como aldehidos, por cuya razón denominó a su técnica *coloración nuclear*, usando la nomenclatura acostumbrada para los aldehidos. Fué recién más tarde que pudo aislarse del ácido timonucleico un compuesto hasta entonces desconocido, la pentosa que hoy se designa como desoxiribosa, comprobándose que es en realidad el verdadero agente activo de la reacción de Feulgen. Con esto se descubrió que el ácido

nucleico que se encuentra tanto en el núcleo animal como vegetal es el mismo, es decir, el ácido desoxiribonucleico, el cual reacciona positivamente con el Feulgen. Anteriormente existía la creencia que en el núcleo de la célula vegetal se encontraba el otro ácido, el ribonucleico, que fué aislado en las levaduras, y por ello llamado también zimónucleico.

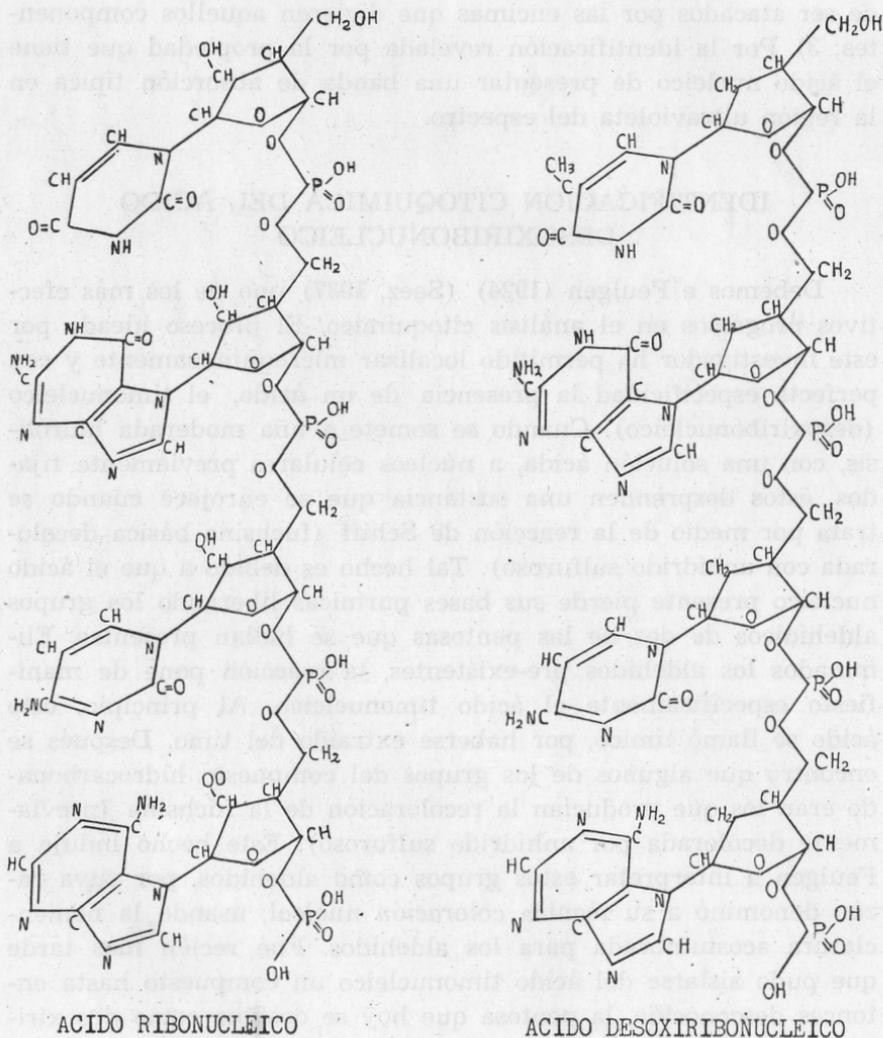


Fig. 3.- Organización estructural de los ácidos ribonucleico y desoxiribonucleico mostrando las diferencias entre ambos componentes

Existen entonces por lo menos dos ácidos nucleicos: desoxiribonucleico en los cromosomas y ribonucleico en las restantes nucleoproteínas de la célula (nucleolo y citoplasma).

La reacción nucleal de Feulgen ha permitido, como se ha visto, establecer una nítida diferenciación de los dos ácidos nucleicos presentes en la célula. La recoloración de la fuchsina que toma color rojo morado en las estructuras celulares es el índice de la presencia del ácido desoxiribonucleico, que en este caso da reacción positiva. Contrariamente el ácido ribonucleico no se pone en evidencia dando por tanto reacción negativa, observable en el nucleolo y en general en todos los componentes celulares que tengan este último ácido.

Desde el punto de vista citoquímico se puede hacer una clasificación de cuales componentes celulares de las levaduras y las bacterias son homólogos de los cromosomas y de las inclusiones citoplásmicas de los organismos superiores, como lo destaca Dufrenoy (1942).

Pollister y Mirsky (1943), han propuesto denominar ácido cromonucleico al desoxiribonucleico y plasmonucleico al ribonucleico teniendo en cuenta la localización específica de cada uno de estos compuestos.

Es interesante destacar que los nucleótidos de la desoxiribosa pueden formar en estado nativo hasta 2000 polímeros. El peso molecular del tetranucleótido es de 1.254 de la sustancia fresca extraída, la cual polimerizada alcanza a 1.000.000, tal como lo han determinado por ultracentrifugación Signer, Caspersson y Hammarsten en 1938. La micela o supermolécula resultante es larga y delgada en una proporción longitudinal de 300:1. La luz polarizada revela una estructura transversal predominante y la difracción por rayos X indica que el espacio de esta estructura es de un ritmo de  $3,34 \text{ \AA}$  (1  $\text{ \AA} = 0,000.0001 \text{ mm.}$ ). El tamaño de la supermolécula es de 6,000 a 7,000  $\text{ \AA}$  ( $0,7 \mu$ ) de longitud de  $15 \times 7\frac{1}{2} \text{ \AA}$  de espesor. Los mononucleótidos se encuentran transversalmente a lo largo de la citada molécula, estando apretujadas en forma compacta. Por ello es que la configuración debe ser pentagonal en lugar de exagonal, puesto que la geometría de los enlaces de carbono hacen que el pentágono se halle en un plano achatado, por cuya causa los puentes fosforosos entre cada nucleótido se pue-

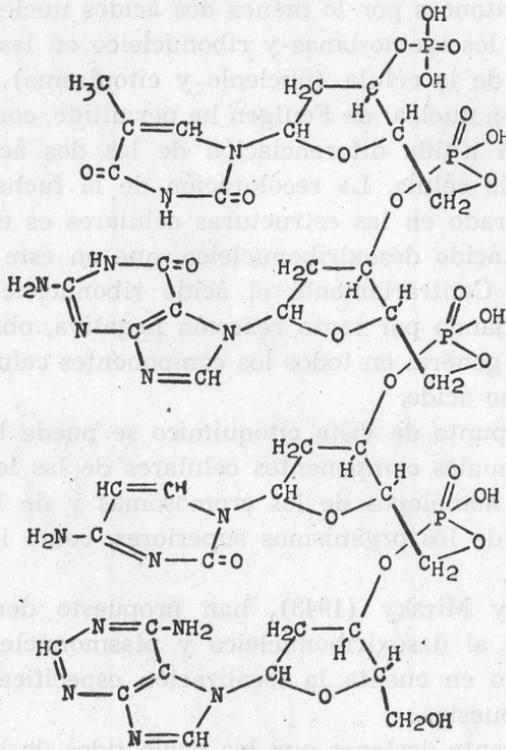


Fig. 4.- Estructura del ácido desoxiribonucleico mostrando la disposición espiralada de los puentes fosforosos entre cada nucleótido.

(Según Gulick, 1941)

den visualizar como las vueltas del espiral de un tirabuzón (Gulick 1941). La Fig. 4 muestra esta disposición. Ya dejamos dicho anteriormente que desde el punto de vista polaroscópico los cromosomas llevaban su ácido nucleico en cordones moleculares que corrían a lo largo del cromonema.

#### MICROESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA Y DIGESTION ENZIMATICA

Hay sustancias dentro de la célula que no presentan absorción con la luz común y otras que como el ácido nucleico poseen la propiedad de dar una absorción característica y específica en el espectro ultravioleta. Empleando un microscopio con óptica de

cuarzo y una fuente de luz ultravioleta es posible identificar determinadas sustancias que se encuentran en la célula.

Lo importante y práctico de este método de investigación es su doble valor cuantitativo y cualitativo, ya que no sólo se obtiene la absorción típica de una sustancia sino que también la curva tiene mayor altura cuanto más cantidad de la misma se halla concentrada (Fig. 5). La observación se lleva a cabo empleando preparaciones con material fresco o fijado de manera que no se alteren los componentes que se deben estudiar, siendo además conveniente que no se haya coloreado previamente ninguno de los tejidos en cuestión. Con radiaciones de longitud de onda entre 2300 y 3000 Å se pone de manifiesto la absorción de acuerdo a la composición química que posee la estructura celular a observarse.

Fué Dhéré quien en 1906 (Mirsky, 1943) notó el elevado coeficiente de extinción que mostraba el ácido nucleico en la absorción ultravioleta del espectro. Al mismo tiempo este autor supuso correctamente que las bases purínicas y pirimídicas eran las que ocasionaban la absorción antedicha. Las primeras fotografías hechas por medio del microscopio de cuarzo con luz ultravioleta se deben a Köhler (1904) quien hizo resaltar las ventajas de este medio de observación que pone en relieve las diferencias, por sus distintos modos de absorber electivamente el ultravioleta, de los diversos elementos de la célula.

El mismo autor en 1928 en un estudio sobre la córnea y la lente del ojo mostró las incalculables posibilidades que se presentaban a la investigación por medio de este procedimiento. Una serie de fotografías con algunas observaciones sobre cromosomas de ortópteros publicadas por Lucas y Stark (1931) contribuyeron a demostrar una vez más que el empleo del microscopio de cuarzo con luz monocromática aplicado al estudio de la célula pone de manifiesto la intensa absorción que tiene la cromatina en relación con el protoplasma circundante.

Estaba reservado a Caspersson el empleo a fondo de este método, quien a partir de 1936 ha producido una verdadera renovación con todas sus consecuencias en la investigación citoquímica por medio de tan importante recurso analítico, dilucidando numerosos problemas que parecían insalvables.

Caspersson (1936-1941) y sus colaboradores, teniendo en cuenta que con una banda de absorción ultravioleta de una longitud de onda de 2600 unidades Ångstrom se puede verificar la presencia de microscópicas cantidades de ácido nucleico en las células (de una magnitud de  $10^{-11}$  mg.), han perfeccionado últimamente con métodos fotoeléctricos y luz ultravioleta polarizada los medios empleados por sus antecesores.

La propiedad de esta intensa absorción es debida como dijimos ante-

riormente a la existencia del anillo de pirimidina como integrante de aquel ácido, si bien no es posible decir cual de las dos pentosas se hallan presentes, por cuya causa el método acusa indistintamente la existencia de cualquiera de los dos ácidos nucleicos que se encuentren en cualquier célula vegetal o animal viva o fijada.

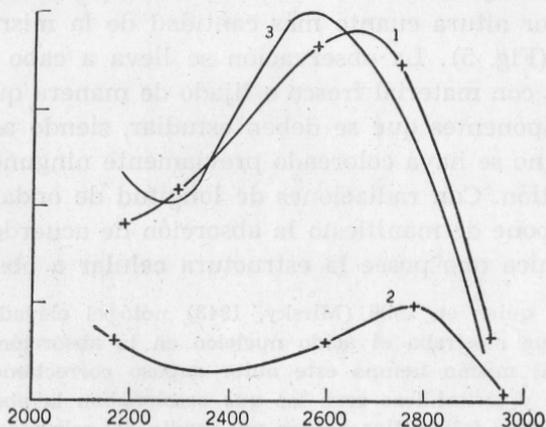


Fig. 5.- Representación gráfica del espectro de absorción del ácido nucleico y de una proteína. En la ordenada se indica el coeficiente de extinción y en la abscisa la frecuencia de onda en unidades Angstrom. La curva 1 pertenece a un fragmento de cromosoma gigante de *Drosophila*. La curva 2 indica el espectro que se obtiene en una región de la célula que no posee ácido nucleico pues tiene un máximo a 2.800  $\text{A}^\circ$  que es la longitud de onda característica de las proteínas. La curva 3 corresponde al espectro de una solución al 10 % de ácido nucleico. Es curioso el desplazamiento que se observa en la curva 1, con tendencia hacia la derecha, lo cual se atribuye a que en el cromosoma se hallaba presente substancia proteica. (Según Caspersson, 1936, tomado de Mirsky, 1943)

La distribución del ácido nucleico ha sido observada en diferentes estadios celulares: en células embrionarias, glandulares, meristemáticas, etc. Desde luego que lo más importante ha sido lo relativo a los cromosomas en sus diversas etapas del ciclo mitótico y meiótico. Tomando como elemento de juicio el cromosoma gigante de las glándulas salivales de *Drosophila* y otros dípteros, se ha comprobado una perfecta distribución coincidente en un todo con los métodos de coloración específicos de la cromatina. El ácido nucleico se encuentra distribuído de acuerdo al espectro máximo de su absorción lo mismo que cuando se tiñe por el Feulgen,

orceina y carmín acético, cristal violeta o hematoxilina. Como prueba de control utilizó Caspersson un test químico consistente en la microprecipitación del ácido nucleico, haciendo una digestión del núcleo por medio de una encima proteolítica (tripsina) mezclada con sales de lantano. Este método elimina todas las proteínas por disolución quedando únicamente el ácido nucleico precipitado por las sales en forma de compuesto insoluble. Los resultados obtenidos tienen indudable valor ya que arrojan mucha luz sobre la distribución del ácido nucleico, problema de gran importancia en el estudio de la fisiología del cromosoma. (Caspersson, 1936, 1941a, 1941; Caspersson y Hammarsten, 1935).

La indiscutible evidencia de que durante la división celular se cumplen una serie de cambios del contenido de ácido nucleico

<i>Estadio de la meiosis</i>	<i>d</i>	<i>k</i>	<i>NS, 10 mg.</i>
Principio del leptoténico	13.1	0.456	19.6
	14.1	0.337	16.8
	13.5	0.390	17.8
	12.5	0.284	11.2
Leptoténico final hasta comienzo del paquiténico.	12.9	0.398	16.6
	15.0	0.44	24.7
	10.6	0.796	22.4
	10.6	0.760	21.4
	13.0	0.585	25.5
	11.3	0.688	22.0
	18.1	0.300	24.3
	14.5	0.523	26.0
Cigoténico	12.8	0.568	23.3
	10.0	0.796	20.
Paquiténico hasta el comienzo del diploténico.	12.0	0.699	25.2
	13.5	0.482	21.8
	11.9	0.658	23.4
	11.3	0.796	25.4
	13.5	0.585	26.5
	11.5	0.620	20.5
	14.1	0.522	26.0
Diploténico	15	0.509	28.4
	14	0.45	22.2
	17.5	0.347	26.5

se basa en el examen de las cantidades de este componente que se hallan en las diversas etapas del proceso meiótico.

En el cuadro que va a continuación se hallan los resultados de los estudios espectrográficos en células vivas durante la meiosis. En  $d$  está indicado el diámetro del núcleo en micrones,  $k$  representa el coeficiente de extinción <sup>(1)</sup> a 2.570 A°,  $NS$  es el contenido total de material absorbido de ácido nucleico en la célula <sup>(2)</sup>.

Las cifras que indican este último fenómeno muestran un hecho de interés: que durante los estadios leptoténicos, es decir durante la profase temprana ya existe bastante cantidad de ácido nucleico a pesar de no haberse producido aún la condensación y contracción de los cromosomas. Por tanto, entre la acumulación de ácido nucleico y la condensación de los cromosomas existe una relación indirecta.

Nótese que en el momento en que posiblemente se produce la duplicación de los cromosomas en el transcurso del estado paquí-diplo-ténico las cantidades de ácido nucleico aumentan, lo cual es para Caspersson un índice seguro de que el ácido nucleico se halla muy relacionado con la reproducción del gene.

También se ha podido estudiar por primera vez en forma concreta el papel desempeñado por el nucleolo en el ciclo del ácido nucleico, sabiéndose por lo pronto que aquel componente tiene ácido ribonucleico almacenado, el cual puede ser transferido a los cromosomas. Además se halla en el nucleolo una proteína del tipo de las histonas que acusa como veremos más adelante su presencia por la acción de un colorante especial. En cuanto al componente proteico de las nucleoproteínas está establecido que se trata de una histona y una protamina. Se sabe que el peso molecular de la timonucleohistona sobrepasa los 2.000.000.

(1) Designado  $I_0$  a la intensidad de la luz que incide sobre un medio absorbente, e  $I$  a la luz transmitida que pasa a través de dicho medio, el coeficiente de extinción  $E$  es el logaritmo del cociente  $\frac{I_0}{I}$ , es decir que

$$E = \log. \frac{I_0}{I}$$

(2) Según Caspersson (1939), tomado de Mirsky (1943).

Mazia (1941) ha emprendido investigaciones de gran interés en esta línea de trabajos, una de las más cautivantes de la moderna citología. Ha estudiado la acción de las encimas sobre los cromosomas salivales de *Drosophila*, *Sciara* y *Chironomus*, extendiendo aún más el horizonte investigado por Caspersson en 1936. Este filón tan recientemente explotado tiene un inmenso porvenir, pues no solamente es posible verificar la presencia de un determinado tipo de substancia, sino que en virtud de la especificidad de las encimas es también factible llegar hasta la propia entraña del cromosoma, puesto que se puede evaluar como se encuentran ligadas entre sí determinados materiales que contribuyen al mantenimiento de su arquitectura química. Como lo hace notar Mazia se tiene potencialmente el más fino de los instrumentos para la micro-disección química.

Por el método mencionado, Mazia halló que la continuidad visible de la estructura depende de una proteína que se digiere por la tripsina y por una protaminasa, pero no por una pepsina, llegando a la conclusión que las substancias necesarias para constituir el cromosoma en una estructura permanente son las protaminas. Las moléculas de las protaminas son demasiado grandes y complejas como para constituir los genes. Se hace notar al mismo tiempo que la proteína que forma la masa principal del espermatozoide de diferentes especies de peces, debe variar mucho en la clasificación general de las proteínas, desde las protaminas a las histonas y que la proteína del virus mosaico del tabaco no entra en la categoría de las protaminas. Para Muller (1941) parece un poco prematuro inferir que los genes son necesariamente protaminas en su composición, lo mismo que considerar que la masa total del cromosoma salival es puramente génica.

Respecto a la organización molecular del cromosoma, Mazia (1941) ha obtenido resultados que significan un positivo progreso en el intrincado problema que nos ocupa. Para este autor: "El cromosoma salival y también el cromosoma vegetal, estarían compuestos de un substratum continuo y una matriz que ocupan un volumen considerable".

La matriz está compuesta de proteína la cual contiene muchos grupos ácidos. El esqueleto continuo parece estar compuesto de una proteína similar a la histona. Es posible que las bandas

cromáticas contengan también una substancia semejante a la protamina a la cual está unida el ácido nucleico.

El comportamiento enzimático del cromosoma es paralelo al de las fibras de nucleoproteína artificiales, lo cual sugiere la existencia de una organización fibrosa del esqueleto del cromosoma.

Otro hecho sinificativo es que las bandas del espectro de absorción ultravioleta acusan a los 2.800 A°, la presencia de los aminoácidos aromáticos y Caspersson recientemente ha podido aprovechar ventajosamente este fenómeno para realizar un análisis de las proteínas del cromosoma salival. La tirosina y el triptófano, dos aminoácidos tienen respectivamente bandas de absorción de 2750 y 2800 Angstrom. En una proteína con muchos grupos ácidos la tirosina tiene una banda de 2800 A° y en una proteína con grupos básicos alcanza este compuesto a una onda de 2900 A°. De aquí se infiere que por la curva de absorción existen en el cromosoma ácidos nucleicos, triptófano y aminoácidos alifáticos.

En la Fig. 5 las curvas del diagrama ilustran con toda evidencia el espectro de absorción de tres substancias.

Vamos en camino de conocer no ya la naturaleza proteica del cromosoma sino también su distribución específica a lo largo de las diferentes partes del mismo.

Según Schultz existen por lo menos tres tipos de proteínas; globulinas, protaminas e histónas distribuidas del siguiente modo: fibras de protamina longitudinalmente ordenadas, histonas en las interbandas, en el cromocentro, nucleolo y en los abultamientos capsulados que con el nombre "puffs" son conocidos en el argot de los que trabajan sobre cromosomas gigantes.

Se ha avanzado más aún por parte de Schultz (1941) por el empleo combinado de la orceína acética de La Cour con un colorante de contraste el verde F C F conocido como "Fast Green" por los investigadores de habla inglesa. Por esta técnica las bandas de desoxiribosa se tiñen en negro diferencialmente (el color negro se produce por la superposición del rojo con el verde), las histonas se colorean en verde, los filamentos de protamina no se tiñen. Estos filamentos han sido previamente disecados en solución de Ringer a 50° C para disociarlos del complejo nucleoproteico. Se ha confirmado plenamente por todos los métodos la existencia de un ordenamiento diferenciado en serie lineal de manera que se pue-

de considerar como adquirido la siguiente composición del cromosoma: un filamento de protamina con zonas intercaladas de nucleoproteína en una cápsula o vaina en conexión con el nucleolo formada por una proteína más compleja.

### DINAMICA QUIMICA DE LOS CROMOSOMAS

En la dinámica química del cromosoma se establece un ciclo regular, pues el contenido de ácido nucleico sufre un aumento momentos antes de iniciarse la metafase cuando la membrana nuclear ya no se interpone y las sustancias pueden entrar libremente desde el citoplasma, siendo muy verosímil que los nucleótidos citoplásmicos (de ácido ribonucleico pues dan Feulgen negativo), sean los que contribuyan en el proceso de síntesis. Se ha comprobado que hay mucha cantidad de ácido nucleico depositada en los cromosomas durante la división celular, considerándose que los nucleótidos citoplasmáticos son una fuente de aprovisionamiento de la cual los cromosomas toman su reserva de ácido nucleico.

Durante el estado metabólico del núcleo (el mal llamado reposo nuclear) el ácido nucleico está distribuido irregularmente aumentando en la metafase y decreciendo al finalizar la división. Es posible que se lleve a cabo una transferencia del citoplasma a los cromosomas con la concomitante transformación de ribosa en desoxiribosa y su polimerización en extensas cadenas.

Si como lo han comprobado Astbury y Bell (1938) tal como lo destacamos antes los espacios entre las unidades sucesivas de la cadena de nucleótidos y la de los polipeptidos es prácticamente del mismo orden, no deja de ser bien sugestiva esta coincidencia más que casual entre ambas moléculas y por tanto es muy probable que el poder autoreproductivo de las proteínas del cromosoma esté estrechamente relacionado con la propiedad de polimerizar los ácidos nucleicos y combinarlos con ellas. Caspersson ha observado en ciertos estados durante la maduración ovular que hay mayor cantidad de ácido ribonucleico del citoplasma especialmente alrededor de la membrana nuclear, lo cual ha sido interpretado por Schultz (1941) como que dicho ácido citoplásmico deriva no del núcleo sino del nucleolo en concordancia con la hipó-

tesis de Caspersson, quien considera que el proceso de síntesis de la proteínas se cumple por medio de las histonas en el nucleolo. Este componente difunde a través de la membrana nuclear los ácidos nucleicos que participan en la síntesis de las proteínas citoplásmicas. En este sentido las regiones formadoras del nucleolo son las más activas productoras de histonas. Por otra parte y dentro de este orden de ideas la producción de histonas es para este último investigador la función que tienen las regiones heterocromáticas del cromosoma. Debe existir una relación recíproca como dice Brachet (Schultz, 1941) entre los dos ácidos nucleicos, de ahí que la función especial del ácido desoxirribonucleico, debe ser no como se creía anteriormente, la constitución de una cadena integrada por la polimerización de dichos ácidos, sino la de sintetizar las proteínas fibrosas del cromosoma.

Durante la profase se tiende a aumentar el compuesto de ácido nucleico, en la interfase por otra parte se sintetiza el componente de proteína por lo que se deduce de este proceso que la unidad de síntesis la constituye una nucleoproteína (Schultz).

Relativo a las propiedades físicas además de haberse comprobado por medio de la microdissección de que los cromosomas tienen consistencia sólida y homogénea aparente desde luego; una de las cosas más importantes para el problema que estamos tratando, su naturaleza química, es el de la elasticidad. La extensibilidad de las bandas es más rígida que la de las interbandas, lo cual es una evidencia más en favor de que están constituidas por ácido nucleico las primeras de estas estructuras.

El minucioso trabajo efectuado con la ayuda del micromanipulador por Buck (1942), ha permitido estirar los cromosomas politénicos de *Chironomus* por medio de las microagujas tanto en sentido longitudinal como a lo ancho, probándose así su elasticidad. Estos experimentos demuestran que las partes del cromosoma que son más extensibles son las correspondientes a las interbandas de ahí que se considere que las bandas tengan estructura fibrosa muy semejante a la que presentan las proteínas de este mismo tipo. También Duryee (1938) ha obtenido interesantes resultados mediante microdissección de los grandes cromosomas plumulados que se encuentran durante la profase del ovocito en el urodelo *Triturus*.

Los recientes métodos empleados por Buck y Melland (1942), para el análisis de la difracción electrónica y por medio de los rayos X aplicado a los cromosomas politénicos, prometen una serie de resultados que han de esclarecer uno de los problemas fundamentales de la estructura física y química del cromosoma.

### HETEROPICNOSIS Y HETEROCROMATINA

Uno de los fenómenos que más directamente se halla relacionado con el metabolismo del cromosoma y por ende con el de los ácidos nucleicos es el denominado heteropicnósis. Desde que se comenzó a estudiar el comportamiento de los cromosomas sexuales ya en tiempos de Henking (1891), se puso de manifiesto la existencia de ciertos elementos cromatínicos precozmente condensados (que en la actualidad sabemos son cromosomas), que presentaban con respecto a los demás cromosomas una nítida diferencia de coloración. Mientras los autosomas se encuentran decolorados y extendidos durante la profase por ejemplo, otros cromosomas, generalmente los sexuales se hallan intensamente teñidos y condensados. Esta reacción diferencial tan peculiar fué llamada por Guthertz (1907), heteropicnosis. Más adelante Heitz (1928) introdujo el término heterocromatina de sentido morfológico, para describir un tipo particular de cromatina que absorbe menos colorante que la cromatina corriente que llamó eucromatina.

Por su reacción diferencial existen dos tipos de heteropicnosis, de acuerdo a su grado de condensación o si se quiere de nucleinización. Como ejemplo referiré el ciclo del cromosoma sexual de las langostas, de nuestra *Schistocerca paranensis* y algunas tucuras del género *Dicroplus*. Durante la metafase espermatogonial este cromosoma se presenta teñido con menor intensidad que los demás cromosomas del juego. Ello se debe a que posee heteropicnosis negativa. Más adelante durante toda la profase meiótica hasta el momento de entrar en la metafase primera invierte su heteropicnosis haciéndose positiva; es decir, que su condensación es más precoz y mayor su capacidad de tinción, presentándose en estado compacto mientras los demás autosomas se hallan aún sin condensarse y por tanto en un menor estado de densidad y coloración. También lo hemos comprobado en la comadreja.

No solo se observa la heteropicnosis en los cromosomas sexuales sino que también se encuentra en ciertos segmentos de los cromosomas en general los cuales pueden estar ubicados intersticialmente o en las extremidades. Para que puedan distinguirse estas regiones heterocromáticas deben ser más o menos extensas, pues de lo contrario pueden pasar desapercibidas con las técnicas corrientes de coloración. En el sapo *Bufo arenarum* se encuentran en la 1ª división meiótica un autosoma con heteropicnosis negativa.

Debido a los trabajos de Heitz (1929, 1935), que actualizó la existencia de regiones diferenciadas en los cromosomas (heterocromáticas y eucromáticas), se ha tratado de comprender el mecanismo de reacción que presenta la substancia heterocromática, si es que puede llamarse "substancia heterocromática" al contenido de esta región del cromosoma y asociar este mecanismo con su condición genética. Los segmentos heterocromáticos pueden hallarse durante la profase somática como pequeños cuerpos compactos y teñidos semejantes a los nucleolos. Son estos los procromosomas que por vez primera describió Overton en 1905 con esa denominación aunque en realidad representan partes condensadas de ciertos cromosomas. Estas formaciones observables sobre todo en la interfase y en la profase son designados en la actualidad cromocentros o también eucromocentros. Los mismos cromosomas que manifiestan de tal manera su presencia durante el reposo nuclear, exhiben luego durante la metafase determinadas regiones más claras, menos coloreables, las que se encuentran distribuidas a lo largo del elemento. Ya sea en la profase así como en la metafase aunque con distinta reacción heteropicnótica, estas regiones diferenciales constituyen la heterocromatina, en oposición a la eucromatina que forma toda la parte cromática propiamente dicha del cromosoma.

Un progreso de mayor interés se efectuó cuando se le asignó fundamento genético a estas substancias, al emitir Heitz (1935) la hipótesis de que la heterocromatina está formada por materia genéticamente inerte. Compróbase en muchas oportunidades que en efecto, cromosomas como el Y de *Drosophila*, considerado inerte presenta una extensa región heterocromática en diferentes especies. También los cromosomas del maíz muestran regiones he-

terocromáticas en algunas etapas de la profase meiótica. Lo mismo se observa respecto al cromosoma X de la mencionada mosca, así también como en los cromosomas II y III. En los cromosomas gigantes se observa que el cromocentro está formado por una región inerte, constituida por la reunión de las zonas heterocromáticas que se encuentran alrededor de los centromeros y a la cual también está unido el cromosoma Y y el nucleolo. Las regiones heterocromáticas suelen encontrarse intercaladas entre las eucromáticas, tal como se ha visto en los cromosomas gigantes. Se ha observado que las regiones inertes de *Drosophila* existen también estriaciones transversales aunque, menos coloreadas. (Painter, 1941). El curioso hecho de que sea más extensa la región heterocromática del cromosoma metafásico somático, que la observada en el cromosoma gigante tal vez sea debida a que no se ha espiralizado suficientemente como era de esperarse durante la metafase, aunque Muller (1938) lo atribuye a la influencia de dos puntos localizados en esa región directamente relacionados con la síntesis del ácido nucleico.

Muy interesante resulta la propiedad que manifiestan las regiones inertes cuando por translocación se ponen en contacto con la zona eucromática (genéticamente activa). Se ha observado que en efecto las zonas eucromáticas se alteran tornándose semejantes en su aspecto a las heterocromáticas (Painter, 1941).

El importante fenómeno que acabamos de referir merece le dediquemos especial atención. Se ha podido comprobar que algunas razas variegadas de *Drosophila melanogaster* existe una relación entre el metabolismo del ácido nucleico del cromosoma y la reproducción del gene. La variegación de estas moscas se debe a una anomalía en la duplicación del gene consistente en reorganizaciones del cromosoma que comprenden la región heterocromática. Citológicamente la variegación está relacionada con deficiencias en los cromosomas salivales, en las bandas que se hallan junto al punto reorganizado. Tal cosa sugiere que ha ocurrido un cambio en el equilibrio del ácido nucleico. Por métodos fotoeléctricos mediante espectrografía ultravioleta se halló que el contenido de ácido nucleico junto a la región heterocromática es tanto mayor cuanto más cerca se halla de la susodicha región y menor cuanto más distante se encuentra de ella (Caspersson y Schultz 1938). En ge-

neral puede afirmarse por este y otros hechos tan singulares, que no se puede considerar fisiológicamente inerte una región heterocromática, pues está demostrado que desempeña una función en el control del desarrollo en virtud de su preponderante participación en el metabolismo celular del ácido nucleico.

Se nos ocurre que sería de mucho interés investigar si entre una región considerada heterocromática no se encuentra intercalada otra sumamente pequeña eucromática dotada de suficiente potencialidad como para inducir determinadas alteraciones con los subsiguientes cambios genéticos. Naturalmente que para ello habría que recurrir a métodos de análisis más sensibles que los empleados hasta el presente.

### REACTIVIDAD DIFERENCIAL. ALOCICLIA

El problema de la reacción diferencial (heteropicnosis) de la heterocromatina ha recibido un vigoroso impulso debido a las investigaciones de Darlington. Darlington y La Cour (1938, 1940). Haciendo actuar bajas temperaturas de 0° C a 3° C, ha obtenido la diferenciación de regiones en los cromosomas somáticos durante la metafase, que normalmente se muestran ópticamente homogéneos con las técnicas corrientes, dicho de otro modo aparecen indiferenciados en toda su longitud. Al actuar la temperatura fría sobre el cromosoma aparecen unos segmentos claros intercalados a lo largo del cromosoma. Estas zonas especiales que se ven únicamente en estas condiciones experimentales son consideradas regiones heterocromáticas. El material más favorable lo constituyen plantas monocotiledóneas de los géneros *Paris*, *Trillium* y *Fritillaria* y animales del grupo de los anfibios como el Tritón, (Callan, 1942) etc.; habiendo también hallado nosotros que algunos insectos ortópteros de nuestra fauna presentan reactividad diferencial semejante por acción de bajas temperaturas. Darlington y La Cour 1941 han introducido el término "Allocyly" que hemos traducido como *alociclia*, para describir la reacción específica (heteropicnosis) de la substancia específica (heterocromatina) en términos de espiralización y carga o acumulación de ácido nucleico.

De manera que los cromosomas son alociclicos en relación con

el ácido nucleico. Durante la profase aparecen como cuerpos condensados, Feulgen positivo, y en la metafase los cromosomas presentan varias regiones claras que se tiñen débilmente. En *Fritillaria pudica* (Darlington y La Cour, 1941) triploide hay 80 segmentos decolorados heterocromáticos en sus cromosomas. Lo más extraordinario es que tales segmentos son constantes y tienen gran valor como elementos de caracterización de cada cromosoma del complejo.

Con este notable hallazgo se está en condiciones de investigar la existencia de zonas inertes en los cromosomas de un organismo determinado. También sirve para conocer más íntimamente el metabolismo del ácido nucleico ya que se ha comprobado que estos segmentos cuando están descargados de este ácido muestran tener fallas durante la división, lo cual robustece la creencia desde el punto de vista genético y químico de que el ácido nucleico desempeña un papel preponderante en la producción génica.

Los autores tratan de aplicar este comportamiento como un indicador genético y taxonómico, de variación e hibridación dentro y entre las especies (Darlington y La Cour, 1940).

En el presente trabajo ha sido posible apreciar con un grado suficiente de penetración que la materia que compone al cromosoma está constituida en su gran mayoría por ácido desoxiribonucleico. Si al mirar una preparación microscópica de cromosomas metafásicos ya sea teñida por los colorantes básicos, o tratada por el Feulgen o bien fotografiada al ultravioleta, todo lo que vemos resaltar intensamente lo forma el ácido nucleico, es lógico inferir que la heterocromatina que se encuentra visible en el período interfásico está también formada de ácido nucleico. Deducimos también por este fenómeno que la heterocromatina es una parte del cromosoma que retiene bastante cantidad de este componente en un momento de su ciclo en que la eucromatina o parte restante del cromosoma pierde mucho ácido nucleico.

El concepto sobre la heterocromatina como parte genética inactiva necesariamente ha tenido que modificarse. Aún admitida como está la participación activa de la heterocromatina en el metabolismo del ácido nucleico y la formación nucleolar, no puede dejarse de lado el problema que plantea la composición, origen y función genética de la región heterocromática.

Ya Darlington (1942) ha puntualizado las funciones de la heterocromatina en ciertos aspectos de la actividad celular (contenido de heterocromatina y volumen nucleolar, constitución de la eucromatina y heterocromatina, reacciones génicas y celulares, etc.). También Painter y Taylor (1942), han hallado que en el sapo *Bufo valliceps*, la heterocromatina es segregada en forma de gránulos separadamente de los cromosomas. Estos gránulos heterocromáticos se encuentran dispersados en el núcleo y no obstante ello siguen funcionando en las actividades dinámicas de la célula.

No es improbable que la manifestación de inactividad de los segmentos heterocromáticos esté relacionada con la menor diferenciación interna que poseen en estos sectores con respecto a los eucromáticos. Debe recordarse que Caspersson considera que las regiones heterocromáticas están constituidas por genes o elementos idénticos o por lo menos muy similares lo cual viene a explicar porque determinadas alteraciones, tales como las duplicaciones o las deficiencias son menos dañosas que las que ocurren en los segmentos eucromáticos. Además la absorción ultravioleta ha demostrado que la heterocromatina es tan uniforme debido a los tipos simples de proteínas que la integran. Por ello es que Darlington (1942) ha expresado la idea de que la diferencia entre ambas regiones cromáticas, entre actividad e inactividad, radica respectivamente en la alta y baja especificidad, lo cual ha recibido cierto apoyo con los cromosomas supernumerarios heterocromáticos, los cuales no son inertes.

Estos cromosomas que pueden presentarse en número variable en el mismo o en diferentes individuos de una determinada población tienden al equilibrio como lo ha mostrado Slack (1939) en *Cimex*, que posee de 3 a 15 cromosomas sexuales heterocromáticos (Darlington y La Cour, 1940), siendo probable que sólo dos de estos cromosomas sean funcionales en la determinación del sexo y los demás sean inactivos desde este punto de vista.

Un problema de difícil solución era el que se presentaba cuando se intentaba dar una explicación de cuales eran los motivos de que los genes inertes hayan perdurado a través del tiempo en el curso de la evolución sin haber desempeñado parte activa en el proceso hereditario. Las investigaciones citoespec-

trográficas aclararon bien pronto las dudas existentes, pues pudo establecerse que en *Drosophila*, cuando hay un cromosoma Y extra en la hembra de constitución XXY, el número de nucleótidos citoplásmicos aumenta en el huevo, por lo que se colige que las regiones heterocromáticas desempeñarían una función reguladora del metabolismo del ácido nucleico en la célula.

Este y otros hechos provenientes de distintas líneas de investigación concurren a dar fuerte presunción en favor de que la heterocromatina está internamente menos diferenciada que la eucromatina.

Partiendo de que hay menos diferenciación en los segmentos heterocromáticos que en las demás partes eucromáticas del cromosoma, Potencorvo (1944) ha insinuado que la estructura de la heterocromatina puede explicarse por la distinta reactividad propia de los cromómeros para la síntesis del ácido nucleico.

Es menester considerar primero porqué aparece uniforme el ciclo del ácido nucleico en las regiones eucromáticas, antes de discutir que es lo que la hace diferir con la heterocromatina. Durante la profase meiótica por ejemplo los segmentos eucromáticos están lejos de presentarse uniformes a lo largo del cromosoma. Cuando el ácido nucleico se ha condensado a lo largo de los cromosomas, pero aun no se ha producido la contracción longitudinal, pueden verse distintamente los cromómeros los cuales difieren por su carga de ácido nucleico. Es decir que sintetizan de modo diferente su ácido nucleico. Son alocíclicos con relación a los otros que se encuentran entre ellos. En una palabra, existe una diferenciación longitudinal entre los cromómeros. Al contraerse los cromosomas por espiralización y pérdida de proteínas ya no es posible distinguir más a los cromómeros individuales. Desde el punto de vista óptico los segmentos con cromómeros de diferentes cargas entremezclados entre sí, aparentemente se presentan uniformes.

Aceptando que la heterocromatina está compuesta de elementos menos diferenciados que la eucromatina, cabe suponer que estos elementos son cromómeros del mismo tipo que aquellos que se encontraban entremezclados en la eudromatina. Potencorvo, piensa que la diferencia esencial entre los dos tipos de cromatina es asunto exclusivo del arreglo lineal de los cromómeros con un

mismo ciclo. Un segmento heterocromático tendría una alta proporción de cromómeros de esta clase, es decir similares o idénticos.

Por otra parte el tipo de cromómero o de los cromómeros de cada segmento heterocromático es distinto en otros segmentos diferentes, cosa que se manifiesta por los distintos aloclícos que se encuentran en un núcleo. En este sentido el apareamiento no homólogo tendría lugar precisamente en aquellas especies donde los cromómeros tipos parecen ser los mismos en varios segmentos. Cuando los segmentos heterocromáticos tienen un origen común como ha ocurrido en algunos casos en *Drosophila*, explicaría porque este fenómeno tiene lugar en forma errática pero generalmente entre especies afines. De ahí que Potencorvo infiera que este comportamiento aloclíclico puede ser tomado en cuenta si se considera que se ha producido una ordenación distinta de cromómeros iguales.

En cuanto al origen de los segmentos heterocromáticos, probablemente se formen cuando una diminuta región eucromática sufra repetidas reduplicaciones en el genotipo y vayan quedando juntas unas a las otras en el cromosoma. Una vez establecida la primera duplicación, hay numerosas posibilidades genéticas y mecánicas para que se propaguen y asienten nuevos bloques heterocromáticos o bien se separen los ya formados y se repartan en ínfimas partes entre los segmentos eucromáticos.

En este orden de ideas Mather (1943-1944), ha sugerido y demostrado genéticamente que la estructura uniforme de la heterocromatina se debe a que está compuesta por poligenes, o que son genes repetidos o réplicas que se encuentran en el mismo tipo, por cuya causa no debe considerarse a aquella zona como genéticamente inerte; pues posee propiedades poligénicas, diferentes a los efectos críticos de los genes mayores, que producen variaciones cuantitativas en los caracteres sujetos parcialmente a modificaciones ambientales. Deduce Mather que los poligenes son esenciales para la óptima adaptación del individuo al medio. De ahí que White (1943) aduzca que la cantidad de heterocromatina debe considerarse como carácter específico que juega importante papel en el fenómeno de la especiación (especies e individuos megaheterocromáticos y microheterocromáticos).

Los cromosomas inertes no son propiamente tales, sino que

en realidad su actividad no es específica ya que toman parte indistintamente en todas las reacciones génicas y celulares. Pero lo que más llama la atención de estos cromosomas con un ciclo anormal de ácido nucleico, es la existencia de ciertos cromosomas supernumerarios que suelen encontrarse en muchos animales y plantas. La influencia de estos elementos sobre el desarrollo no es muy definida, pero son capaces de producir divisiones extras, las que después de cierto límite se vuelven malignas como en el caso de las células cancerosas. De ahí que, como sugiere Darlington y Thomas (1941), la cantidad de ácido nucleico producida por las alteraciones espontáneas de los cromosomas heterocromáticos, pueda ser una de las causas que originan el cáncer. Un aspecto que por cierto es totalmente nuevo y que debe ser menudamente investigado como importante contribución al esclarecimiento de un gran problema.

### GENES Y VIRUS

Dado el carácter molecular de la herencia que requiere una organización discontinua del cromosoma, cabe suponer desde luego que los genes en si mismos deben considerarse como supermoléculas de capacidad potencial determinada para producir principios activos. Ahora bien, la dificultad se presenta cuando se quiere identificar o considerar separadamente substancia génica de la substancia cromosómica.

Las más pequeñas unidades que pueden considerarse con capacidad autónoma diríamos, son las puestas de manifiesto por el experimento genético, las unidades de crossing-over y las producidas por ruptura de diminutas regiones del cromosoma por medio de los rayos X, cuyas dimensiones oscilan entre los 100 milonésimos de milímetro. Como dice Waddington (1939), es posible concebir al cromosoma como una ordenación lineal de unidades con orden jerárquico entre ellas mismas, de acuerdo a los métodos con que se indaga en lo profundo de su organización.

Un acontecimiento que ha renovado las concepciones actuales sobre la base física de la vida y sobre la naturaleza del gene, ha sido el descubrimiento de los virus proteínicos constituidos por enormes moléculas aisladas, libres.

El notable hallazgo de Stanley del virus mosaico del tabaco, productor de una enfermedad común en las plantas, debida no a un ultramicrobio sino a una proteína aislable al estado puro y cristalizado significa una revolución en la biología ya que nos conduce a un punto en que la materia viviente pareciera revelarnos con rara simplicidad cuan cercano se halla el umbral fronterizo entre la substancia viva y la materia inanimada. Materia viva, virus proteínas, auténticas moléculas químicas solitarias, capaces de reproducirse y de cristalizar!...

Los virus proteínas pueden ser considerados como genes libres en virtud de que están dotados de una capacidad única e inherente a ellos, la mutación, Stanley (1938).

El peso molecular, que en el caso del virus mosaico del tabaco es de 48.000.000 está en relación con el calculado para un gene de *Drosophila*, de acuerdo a determinaciones consideradas como máximas. Las partículas del virus, medidas por medio del microscopio electrónico tienen 2.800 X 150 X 150 A° de dimensión, habiéndose además comprobado que dichos elementos se encuentran orientados en forma precisa y característica unos con respecto al otro.

El análisis químico ha puesto de manifiesto que los virus en cuestión están constituídos por nucleoproteínas y ácidos nucleicos no polimerizados del tipo de la ribosa. Stanley y Knight (1941).

Dada la estrecha correlación existente entre el poder de autorreplicación encimática (suponiendo al gene como una supermolécula encimática) y la presencia de ácido nucleico, cada uno de estos elementos debe estar integrado por combinaciones nucleoprotéicas.

Se ha sugerido que los genes son nucleoproteínas que actúan como encimas en la formación de duplicados de su propia estructura y capaces de perpetuarse por sucesivas divisiones nucleares. En la propiedad de poder realizar autosíntesis, los genes se asemejan a otras dos nucleoproteínas, el virus mosaico del tabaco y el bacteriófago, los cuales aparentemente actúan como encimas que catalizan en el proceso de su propia autoreproducción.

Luego la parte proteica del cromosoma vendría a ser el substratum donde se efectúa la autóduplicación, íntimamente asociada

con el poder de polimerizar los ácidos nucleicos y de realizar las síntesis.

Podría admitirse que los genes fueren unidades formadas en ciertas regiones de los cromosomas donde hay cadenas polipeptídicas y de ácido nucleico orientadas y extendidas, cuyos radicales básicos de ácidos diaminos se combinan con un exceso de ácido nucleico. El cromómero se constituiría por la unión de unos o más genes. Las regiones intercromoméricas las formarían proteínas sin ácido nucleico cuyas cadenas se hallarían plegadas y orientadas en distintos sentidos. (Serra, 1942).

Goldschmidt (1938), preconiza que el cromosoma es una molécula gigantesca de estructura muy complicada formada por una cadena con eslabones susceptibles de cambiar de posición que sería los propios genes. Esta superestructura eslabonada tendría reacción catalizadora la cual puede alterarse al cambiar los componentes. Cambio éste que sería de carácter genotípico, una verdadera mutación con su correspondiente expresión fenotípica. En el concepto de este autor el gene no es una unidad independiente ya que la única unidad real es el propio cromosoma.

Acertadamente Mirsky (1943) al referirse al problema que plantea el conocimiento químico del gene sugiere que sería necesario extraer substancia de los cromosomas de un organismo dado y administrárselas a una forma mutante del mismo organismo que presente deficiencia en su material germinal. El mismo método empleado en fisiología endócrina. Suministrarle extracto de una glándula determinada a un individuo que sufre por la deficiencia de una glándula del mismo tipo. Agrega Mirsky que "si los genes son en realidad substancias químicas distintas y separables podrá descubrirse por este camino".

Los efectos genéticos producidos por las radiaciones aportan una prueba sobre la íntima relación existente entre la actividad de los genes y el ácido nucleico. Hay experimentos como el realizado por Stadler y Uber (1942) tendientes a mostrar que la luz monocromática ultravioleta de diferentes longitudes de onda, produce mayores efectos aumentando las mutaciones en el punto que coincide con la mayor absorción del ácido nucleico. Pero como lo hace notar Mirsky (1943) es difícil determinar la energía efectiva de los cromosomas, pues al irradiar el polen, parte de la

energía es absorbida antes de que llegue a hacer impacto en el cromosoma. Estos experimentos deben continuarse pero empleando material en que sea más fácil y controlable el efecto de la radiación ultravioleta como por ejemplo los organismos unicelulares, tal como lo está realizando Hollaender (1945) y otros autores.

Se desarrolla activamente en estos momentos, una nueva y promisoría corriente dentro de la investigación genética, que ha de contribuir al esclarecimiento de la naturaleza del gene. Se trata del ataque por medio de la química enzimológica e inmunológica al problema de la fisiología y dinámica de la acción génica en los microorganismos (hongos, microbios, protozoarios, etc.), que como es de imaginarse constituye un material admirablemente adecuado para este género de investigaciones (Lindgren, 1945; Spiegelmann, 1945; Delbrück, 1945; Emerson, 1945 y otros).

Una de las conquistas más notables sobre control de la inducción y de la herencia de las estructuras celulares tanto *in vivo* como *in vitro* es la que han llevado a cabo Avery, MacLeod y McCarty últimamente (Gulland, Barker y Jordán, 1945) en ciertos tipos de Pneumococos. El producir una transformación experimental específica mediante la acción de una substancia química bien definida como en este caso (Sal de sodio del ácido desoxirribonucleico) significa abrir un rumbo nuevo e ilimitado en perspectivas en "el campo de la genética, la virología y el cáncer".

Esto nos lleva paulatinamente al descubrimiento de que no existen fronteras entre los distintos niveles de los sistemas genéticos. Los genes, plástógenes y plasmógenes que integran el nivel nuclear, corpuscular y molecular no tienen solución de continuidad entre sí, como no es posible establecer una separación entre herencia, desarrollo e infección la cual es únicamente de carácter técnico y arbitraria como lo ha señalado muy acertadamente Darlington (1944).

Dijimos en cierta oportunidad (1945) que "a medida que descendemos en lo profundo de este prodigioso sistema de organización, transponiendo paulatinamente las fronteras que nos cierran el paso descubrimos nuevos horizontes que nos acercan a un nivel cada vez más diminuto". Es como si hubiésemos ha-

llado el eslabón perdido que enlaza en una gran unidad común todos los materiales que integran el universo.

### BIBLIOGRAFIA

- ASTBURY, W. T., 1933: Fundamentals of fibre structure. Oxford. Vol 393.
- ASTBURY, W. T.: X-ray studies of protein structure. Nature. Vol. 137.
- ASTBURY, W. T., y BELL, F. O., 1938: X-ray studies of thymonucleic acid. Nature. Vol. 141.
- BARBER, H. N. y CALLAN H. G., 1944: Distribution of Nucleic acid in the cell. Nature. Vol. 153.
- BUCK, J. B., 1942: Micromanipulation of Salivary Gland Chromosomes. Jour. Hered. Vol. 33.
- BUCK, J. B. y MELLAND, A. M., 1942; Methods for isolating, collecting and orienting salivary gland chromosomes for diffraction analysis. Jour. Hered. Vol. 33.
- CALLAN, H. G., 1942: Heterochromatin in Triton. Proc. Roy. Soc. B, Vol. 130.
- CALLAN, H. C., 1943: Distribution of nucleic acid in the cell. Nature, Vol. 152.
- CASPERSSON, T., 1936: Über den chemischen Aufbau der Strukturen des Zellkerns. Skand. Arch. f. Physiol. Vol. 73.
- CASPERSSON, T., 1941: Studien über den Eiweißumsatz der zelle. Naturwiss. Vol. 29.
- CASPERSSON, T., 1941: On the role of the nucleic Acids in the Cell. Proc. VII Genetic Cong.
- CASPERSSON, T. y HAMMARSTEN, E. H., 1935: Interaction of proteins and nucleic acid. Trans. Farad. Soc. Vol. 31.
- CASPERSSON, T. y SCHULTZ, J., 1938: Nucleic acid metabolism of the chromosomes in relation to gene reproduction. Nat. Vol. 142.
- CASPERSSON, T., 1944: "Chromosomin" and nucleic acids. Nature. Vol. 153.
- DARLINGTON, C. D. y LA COUR, L., 1938: Differential reactivity of the Chromosomes. Ann. Bot. Vol. 2.
- DARLINGTON, C. D., 1939: The genetical and mechanical properties of the sex, chromosomes. Jour. Genet. Vol. 39, Nº 1.
- DARLINGTON, C. D. y LA COUR, L., 1940: Nucleic acid starvation in chromosomes of Trillium. J. Genet. Vol. 40.
- DARLINGTON, C. D. y LA COUR, L., 1941: The Detection of inert Genes. J. Hered. Vol. 32.
- DARLINGTON, C. D. y THOMAS, P. T., 1941: Morbid mitosis and the activity of inert chromosomes in Sorghum. Proc. Roy. Soc. B, Vol. 130.
- DARLINGTON, C. D., 1942: Chromosome chemistry and gene action. Nature. 149.

- DARLINGTON, C. D., 1944: Heredity, development and infection. Nature. Vol. 154.
- DUFRENOY, J., 1943: The distinction Between Ribose and Desoxyribose-Nucleoproteins and Its Cytological. Implications. Biodynamica. Vol. 4.
- EMERSON, S., 1945: Genetics as a tool for studying gene structure. Ann. Mo. Bot. Gard. Vol. 32.
- DELBRUCK, M., 1945: Spontaneous mutations of bacteria. Ann. Mo. Bot. Gard. Vol. 32.
- FEULGEN, R. y ROSSENBECK, H., 1924: Mikroskopisch - chemischer Nachweis einer Nucleinsäure vom Typus der Thymonucleinsäure und die darauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen Präparaten, in Z. f. physiol. Chemie. Vol. 135.
- FROLOVA, S. L., 1944: Study of fine chromosome structure under enzyme treatment. Jour. Hered. Vol. 35.
- GOLDSCHMIDT, R., 1938: Physiological Genetics. New York y Londres.
- GULICK, A., 1941: The chemistry of the chromosomes. The Bot. Review, Vol. 7.
- GUTHERZ, S., 1907: Zur Kenntniss der Heterochromosomen. Arch. Mik. Anat. Vol. 69.
- GULLAND, J. M., BARKER, G. R. y JORDAN, D. O., 1945: The chemistry of the nucleic acids and nucleoproteins. Ann. Rev. Biochem. Vol. 14.
- HEITZ, E., 1928: Das Heterochromatin der Moose. I. Jahrb. wiss. Bot., Vol. 69.
- HEITZ, E., 1929: Heterochromatin, Chromocentren, Chromomeren. Der Deuts. Bot. Ges. Vol. 47.
- HEITZ, E., 1935: Chromosomenstruktur und Gene. Zeit. Induk. Abst. Vererb. Vol. 70.
- HENKING, H., 1891: Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern des Insekten. II. Über Spermatogenese und deren Beziehung zur Eientwicklung bei *Pyrrhocoris apterus* L. Zeits. wiss. Zool. Vol. 51.
- HOLLAENDER, A., 1945: The mechanism of radiation effects and the use of radiation for the production of mutations with improved fermentation. Ann. Mo. Bot. Gard. Vol. 32.
- LINDEGREN, C. C., 1945: Mendelian and cytoplasmic inheritance in yeasts. Ann. Mo. Bot. Gard. Vol. 32.
- LUCAS, F. F. y STARK, M. B., 1931: A study of living sperm cells of certain Grasshoppers by means of the ultraviolet microscope. Jour. Morph., Vol. 52.
- MAZIA, D., 1941: Enzyme studies on chromosomes. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biol. Vol. 9.
- MATHER, K., 1943: Polygenic inheritance and natural selection. Biol. Rev. Vol. 18.
- MATHER, K., 1944: The genetical activity of heterochromatin. Proc. Roy. Soc. Ser. B. Vol. 132.

- MIRSKY, A. E., 1943: Chromosomes and nucleoproteins. *Advances in enzymology*. Vol. 3. New York.
- MULLER, H. J., 1938: The remaking of chromosomes. *Colleging Net*. Vol. 13.
- MULLER, H. J., 1941: Résumé and perspectives of the Symposium on Genes and Chromosomes. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biol.* Vol. 9.
- OVERTON, J. B., 1909: On the organisation of the nucleic in the Pollen-Mother-Cells of certain plants, with special reference to the Permanence of the Chromosomes. *Ann. Bot.* Vol. 23.
- PAINTER, T. S., 1941: An experimental study of salivary chromosomes. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biol.* Vol. 9.
- POLLISTER, A. W. y MIRSKY, A. E., 1943: Terminology of Nucleic Acids. *Nature*, Vol. 152.
- POTENCORVO, G., 1944: Structure of heterochromatin. *Nature*. Vol. 153.
- SAEZ, F. A., 1937: Observaciones sobre la reacción nuclear de Feulgen y Rosenbeck. *Segunda Rev. Cien. Nat. Physis*. Vol. 18. (1939).
- SAEZ, F. A., 1945: Algunas conquistas recientes de la biología. *Conferencias del Ciclo, 1942*. Ed. Comis. Nac. de Cultura. Vol. 5.
- SLACK, H. D., 1939: Structural hybridity in *Cimex L.* *Chromosoma*. Vol. 1.
- SCHULTZ, J., 1941: The evidence of the nucleoprotein nature of the gene. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biol.* Vol. 9.
- SERRA, J. A., 1942: Relations entre la chimie et la morphologie nucléaire. *Bol. Soc. Broteriana*. Vol. 17.
- SIGNER, R.; CASPERSSON, T. y HAMMARSTEN, E., 1938: Molecular shape and size of thimonic acid. *Nature*. Vol. 141.
- SPIEGELMANN, S., 1945: The physiology and genetic significance of enzymatic adaptation. *Ann. Mo. Bot. Gard.* Vol. 32.
- STADLER, L. J. y UBER, F. M., 1942: Genetic effects of ultraviolet radiation in maize. IV. Comparison of monochromatic radiations. *Genetics*. Vol. 27.
- STANLEY, W. M., 1938: The reproduction of virus proteins. *Amer. Nat.*, Vol. 72.
- STANLEY, W. M. y KNIGHT, C. A., 1941: The chemical composition of strains of tobacco mosaic virus. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biol.* Vol. 9.
- STEDMAN, E. y STEDMAN E., 1943: Chromosomin, a protein constituent of chromosomes. *Nature*. Vol. 152.
- WADDINGTON, C. H., 1939: The Physicochemical Nature of the Chromosome and the Gene. *The Amer. Nat.* Vol. 73.
- WHITE, M. J. D., 1943: Amount of heterochromatin as a specific character. *Nature*. Vol. 152.
- WRINCH, D. M., 1936: On the molecular structure of chromosomes. *Protoplasma*. Vol. 25.