

LA OXIDACIÓN CATALÍTICA
DE LOS GAMETOS DEL ERIZO DE MAR
ANTES DE LA FECUNDACIÓN

por

M. SANCHEZ Y SÁNCHEZ

Una de las concepciones más brillantes y fecundas en Zoología, ha sido la «teoría de las causas actuales de De-lage». El suponer que todos los fenómenos de la vida animal, por complicados que parezcan, son accesibles a nuestros medios de observación y que reconocen una causa inmediata y directamente apreciable, ha orientado la dirección de los estudios modernos, haciendo de la Zoología una ciencia analítica y experimental, como lo es la Física o la Química.

La fecundación ha sido objeto de estudio preferente para gran número de investigadores, pero sobre todo ha sido analizada desde un punto de vista morfológico: se ha descrito con todo lujo de detalles la unión del óvulo y del espermatozoide; el aspecto de los centrosomas, mitocondrias, etc., pero los trabajos sobre el mecanismo físico-químico de dicho proceso son bien escasos, lo cual dimana, como dice muy bien G. Bohn, de que la mayoría de los zoólogos desconocen los métodos de dichas ciencias.

Dando nosotros mucha más importancia a estos últimos, influidos por la escuela biológica de Estrasburgo, a cuyo maestro Bataillon somos deudores de toda clase de enseñanzas, hemos estudiado el proceso de la fecundación en el *Strongylocentrotus lividus*, habiendo obtenido algunos resultados de los cuales damos un esbozo en esta nota preliminar.

Las ideas de Loeb acerca de la oxidación del protoplasma ovular han sido objeto de grandes discusiones en estos últimos años (1). En líneas generales, la manera de pensar del eminente profesor del Instituto Rockefeller puede resumirse del modo siguiente: el espermatozoide lleva consigo dos substancias, de las cuales una provoca la formación de una membrana (como el ácido butírico en la fecundación química) y otra desempeña el papel de la solución hipertónica, haciendo posible el completo desarrollo de las larvas.

El huevo maduro virgen, según Loeb, es un organismo anaerobio obligatorio, es decir, que él se destruye por sus propias oxidaciones, transformándose mediante la fecundación en un ser aerobio para el cual las oxidaciones son indispensables.

Según se desprende de nuestras observaciones, el óvulo es oxidado por *sí mismo* gracias a los catalizadores que se desarrollan en la periferia del protoplasma, una vez que éste ha adquirido su madurez.

Para llevar a cabo mis trabajos me he servido de distintos ejemplares de erizos, empleando unas veces individuos en plena madurez sexual y otras individuos ave-

(1) Para la Bibliografía véase la obra de LOEB: *El organismo vivo en la Biología moderna*, traducción de García Banús, Madrid, 1920. Los trabajos posteriores al año 1916 pueden consultarse en la Memoria de FRANK LILIE: *Studies of Fertilization (Biological Bulletin, 1921, n.º 1)*.

jentados en el laboratorio. También he estudiado la fecundación en óvulos anucleados, siguiendo la técnica de Ives Delage (fecundación merogónica) (1).

Las enzimas oxidativas han sido estudiadas en el erizo por A. von Herwerdenn (1913), el cual las descubrió en los óvulos fecundados, blastómeros y estadios embrionarios, cuyo trabajo hemos tomado por base en nuestras investigaciones. De las reacciones de la química biológica que hemos utilizado, nos ha dado resultados satisfactorios la propuesta por Röhmann y Spitzer, que causa en presencia de un transmisor de oxígeno — los oxidones protoplásmicos en nuestro caso — la formación de indofenol en la célula. Como las enzimas oxidativas se colorean en azul oscuro en los óvulos y espermatozoides, se pueden obtener dibujos localizando dichos catalizadores, como si se tratase de una preparación histológica.

El líquido de Röhmann y Spitzer lo preparamos disolviendo 0,15 gramos de α naftol y 0,3 gramos de carbonato de sodio en 100 centímetros cúbicos de agua de mar. Antes de usarlo se mezcla con 0,1 gramo de dimetilparafenildiamina.

Cuando el óvulo está maduro, es decir, cuando ha expulsado los corpúsculos polares, el protoplasma entra en actividad, apareciendo los oxidones específicos de la fecundación en su periferia y en torno de la membrana una vez que ésta ha sido formada bien por el α naftol (óvulos vírgenes), bien por el espermatozoide.

De igual modo que A. von Herwerdenn aceptamos la nomenclatura propuesta por Batelli y Stern, denominando

(1) Cumplo con un deber expresando desde estas líneas mi mayor afecto al Dr. Ch. Pérez, profesor de Zoología en la Sorbona y Director del Laboratorio de Roscoff, así como también a Mlle. Dr. Dehorne, preparadora en dicho centro, por haberme proporcionado cuantos medios materiales necesité para llevar a cabo mis modestas investigaciones durante el verano de 1921.

oxidones a aquellas substancias transmisoras de oxígeno que se alteran rápidamente por el alcohol, no soportan una temperatura superior a 60 grados, no se disuelven en el agua y se destruyen fácilmente por la tripsina.

Nuestros estudios no comprueban la teoría céntrica de las interacciones celulares de Driesch, admitida por gran número de investigadores; supone dicho sabio que las enzimas celulares son elaboradas en el núcleo, y de aquí pasan al protoplasma. Mis experiencias confirman que las enzimas oxidativas son elaboradas en el protoplasma en gránulos preformados, los cuales existen independientemente del núcleo, como lo prueba el hecho de que en los óvulos anucleados (método de Delage) y aptos para ser fecundados, aparecen aquellos agentes catalíticos, y gracias a ellos el organismo anaerobio se transforma en aerobio.

En las figuras adjuntas representamos la distribución de los oxidones específicos en el óvulo de *Strongylocentrotus lividus* en torno de él y en los espermatozoides (fig. 1 y 2); la atmósfera oxidante visible se extiende a una distancia como el radio del óvulo, aproximadamente; los oxidones del protoplasma son más fácilmente perceptibles, y aumentan cuando la enérgida espermática se ha constituido, lo cual parece indicar que las oxidaciones en tan importante momento llegan al máximo.

En un principio creí que existía alguna relación entre los oxidones y el condrioma; pero ulteriormente me he convencido de que son dos cosas completamente distintas, ya que estudiadas las mitocondrias con métodos selectivos presentan una facies diferente (1).

(1) Se pueden poner en evidencia las mitocondrias, con una variante del método de Heidenhein, que consiste en fijar las piezas en formol neutro, durante 24 horas a 40° (en estufa) y previa inclusión en parafina tratar los cortes por el mordiente, teniendo la precaución de someterlos a la acción de la hematoxilina en caliente a la misma

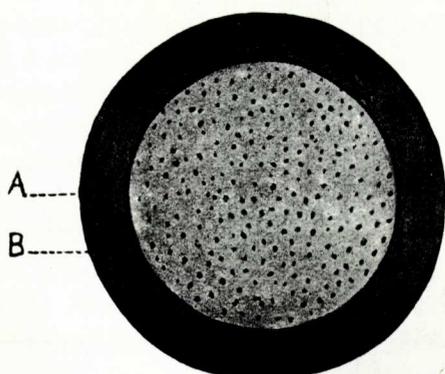


Fig. 1



Fig. 2

Ovulo de *Strongylocentrotus lividus*, tratado por el método de Röhmann y Spitzer

Fig. 1. — Huevo virgen maduro con los oxidones específicos esparcidos por el protoplasma (A) y abundantísimos, con el aspecto de un estrato continuo (B) en la periferia; membrana de fecundación producida por el α naftol. Además, la atmósfera oxidante se extiende fuera del óvulo hasta una distancia igual aproximadamente a su radio. Los oxidones del protoplasma son más fácilmente visibles, apareciendo coloreados en azul, y aumentan en número cuando la enérgida protoplasmática se ha constituido.

Fig. 2. — El espermatozoide — en la figura se ven tres — al atravesar la atmósfera periovarial, que está cargada de oxidones específicos, se provee de dichas enzimas oxidativas, las cuales se sitúan tanto en la cabeza como en la cola (X, 1,500).

El espermatozoide, al atravesar la atmósfera ovular, que está cargada de oxidones, se provee de dichas enzimas oxidativas, las cuales se sitúan tanto en la cabeza como en la cola (fig. 2); cuando el espermatozoide penetra en el óvulo, no es posible asistir al proceso íntimo de las metamorfosis de los catalizadores, debido a la gran cantidad de oxidones que existen en la zona periférica del protoplasma, los cuales impiden toda observación.

Teniendo en cuenta los estudios de fecundación mero-gónica, en los cuales se ve que la orientación y penetración del espermatozoide en el óvulo se verifican como de ordinario, es preciso pensar que el poder atractivo de la célula huevo no reside en el núcleo, sino en el protoplasma.

Se puede invocar, para explicar esta acción atractiva, bien una influencia eléctrica, bien una influencia quimio-táctica. En el óvulo normal la cantidad de cromatina es insignificante comparada con el volumen de la substancia protoplásmica. Según Wilson, debe ser evaluada en el erizo en diez micrones cúbicos; en cambio el espermatozoide está formado casi todo él por cromatina; y como sabemos que las células en dichas condiciones se comportan eléctricamente de distinta manera, cabe suponer una atracción fundada en las cargas distintas de entrambos elementos celulares.

La segunda hipótesis — la acción quimiotáctica — nos parece más verosímil; son muchos los autores que admiten esta suposición, pero nadie ha logrado demostrarlo. Como hipótesis de trabajo, creo que es el oxígeno producido por las enzimas oxidativas la substancia que ejerce este poder, y me fundo para ello en estas dos razones:

temperatura, durante 8 ó 10 minutos. Con esta variante del método de Heidenhein se logran no sólo excelentes preparaciones de las mitocondrias, sino también de otros elementos citológicos, tal como las epiteliofibrillas, granulaciones glandulares, etc.

1.º Los óvulos normales, como los anucleados experimentalmente, cuando son aptos para ser fecundados, se cargan de dichos catalizadores.

2.º En los óvulos de erizos avejentados en el laboratorio, y en los cuales la fecundación no se realiza, no aparecen los citados fermentos oxidantes.

La demostración de mi hipótesis sería completa, si suprimiendo la acción de dichos catalizadores no fuese posible la fecundación; tal es lo que pienso hacer en ulteriores estudios y lo que constituirá el programa de futuras investigaciones.

Se puede demostrar experimentalmente que la formación del indofenol es ocasionada por las enzimas oxidantes, tratando los gametos, singularmente los espermatozoides, por una solución débil de permanganato potásico y ulteriormente por el líquido de Röhmman y Spitzer: en este caso aparecen los gránulos azules como si los espermatozoides procedieran de la atmósfera ovular. Algunas experiencias clásicas de Loeb confirman mi interpretación de la oxidación en la anfimixia; así, por ejemplo, cuando dicho sabio rodea a los óvulos de una atmósfera inerte — no oxidante — no se verifica la fecundación por inhibir la acción de las enzimas oxidativas, las cuales son los *agentes* que producen el fenómeno, en tanto que el oxígeno — que puede formar parte de múltiples vehículos — no representa sino el *material* para que dicha oxidación tenga lugar.

Laboratorio de Zoología experimental de Roscoff.