

Anàlisi quantitativa cel·lular del creixement i decreixement en les planàries *Dugesia (G) tigrina* i *Dugesia (S) mediterranea*.

Rafael Romero.

Departament de Genètica, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Diagonal 645, Barcelona-28.

Introducció:

El creixement i decreixement a planàries és un procés continu que depèn de diversos paràmetres, com el tipus de dieta, la temperatura, la freqüència d'alimentació, la quantitat d'aliment ingerit i d'altres variables ambientals i genètiques.

La cinètica del creixement i decreixement en planàries ha estat realitzat mesurant l'augment o disminució de variables com la superfície de l'animal (Calow,77), la llargada (Reynoldson,66) i el volum (Abeloos,30). Aquestes variables estan en funció de les cèl·lules que neixen i moren en un organisme i en conseqüència, dels canvis en el nombre total de cèl·lules que el compon. En aquest sentit, la tècnica de maceració permet conèixer el total de cèl·lules que constitueix un organisme, permetent l'estudi de la cinètica del creixement i decreixement en funció dels canvis que es produeixen en aquests valors en termes de cèl·lules que guanya o perd un organisme per cel·lula i per dia. Aquest paràmetre pren el nom de taxa de producció ( $K_G$ ,  $K_{DG}$ ) i és el resultat del balanç entre les cèl·lules que neixen (proliferació) i les cèl·lules que moren (mort cel·lular). Expresat en altres termes podem dir que la taxa de producció ( $K_G$  i  $K_{DG}$ ) equival a la diferència entre la taxa de proliferació ( $K_B$ ) i la taxa de mort cel·lular ( $K_L$ ).

Ja que paràmetres externs com la temperatura, la freqüència de nodriment i la quantitat de menjar ingerit influeixen decisivament en el creixement i decreixement és força interessant l'estudi dels canvis en les taxes de proliferació i de mort cel·lular en funció dels canvis externs d'aquestes condicions.

Material i mètodes:

Els organismes utilitzats en aquest treball pertanyen a les espècies *Dugesia (G) tigrina* i *Dugesia (S) mediterranea*.



terranea.

a) Temperatura, freqüència de nodriment, llargada inicial dels organismes i durada de les experiències.

Les temperatures que s'han utilitzat ha estat 7, 12, 17 i 22° en animals de 3, 5, 7 mm de llargada inicial, en freqüències de nodriment de dejú total (x0), alimentats una vegada al mes (x0.25) alimentats dues vegades al mes (x0.5), alimentats una vegada per setmana (x1) i alimentats dues vegades per setmana (x2). La durada total dels experiments ha estat de 10 mesos.

b) Estimes de les taxes de producció (creixement ( $K_G$ ), decreixement ( $K_{DG}$ )).

El nombre total de cèl.lules d'un organisme ha estat obtingut per maceració en glicerol/ A. acètic/  $H_2O$  (1:1:13) i posterior mesura amb hemocitòmetre.

La taxa de producció cel.lulars'obté a partir de l'equació:

$$N_t = N_o \cdot e^{Kt}$$

si  $K > 0 \rightarrow K_G$  (taxa de creixement)

si  $K < 0 \rightarrow K_{DG}$  (taxa de decreixement)

c) Mesura de la taxa de proliferació ( $K_B$ ).

A causa de la dificultat en la incorporació de timidina exògena a planària, s'ha utilitzat el mètode alternatiu d'atur metafàsic (mètode estagmocinètic) amb colxicina (0.05%, Sigma) com agent bloquejant amb períodes de 3, 6, 12 hores d'atur. Els resultats obtinguts es refereixen al nombre d'un organisme. Així la taxa de proliferació ve donada per noves cèl.lules per cèl.lula i per dia.

d) Mesura de la taxa de mort cel.lular ( $K_L$ ).

La mort cel.lular s'obté de l'equació

$$K_G = K_B - K_L$$

i per tant ve donada, també, en nombre de cèl.lules que moren per cèl.lula i per dia.

e) Mesura de la quantitat de menjar ingerit.

Els animals són alimentats amb un menjar preparat al laboratori que conté una concentració de fluoresceïna (Sigma) de 1.78 mg/ml.

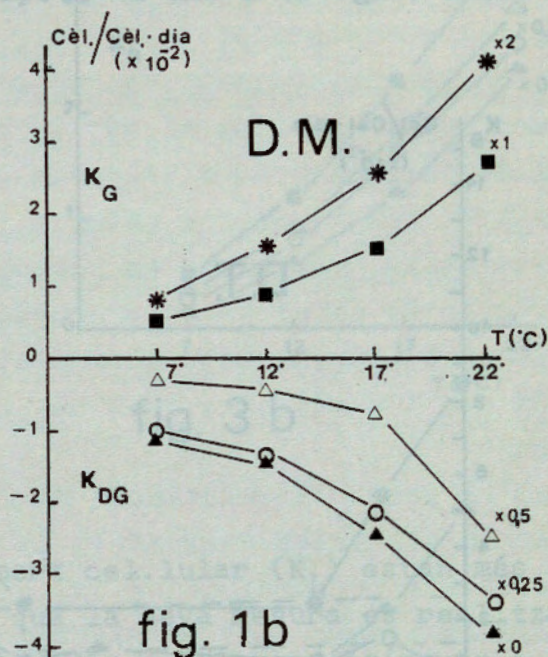
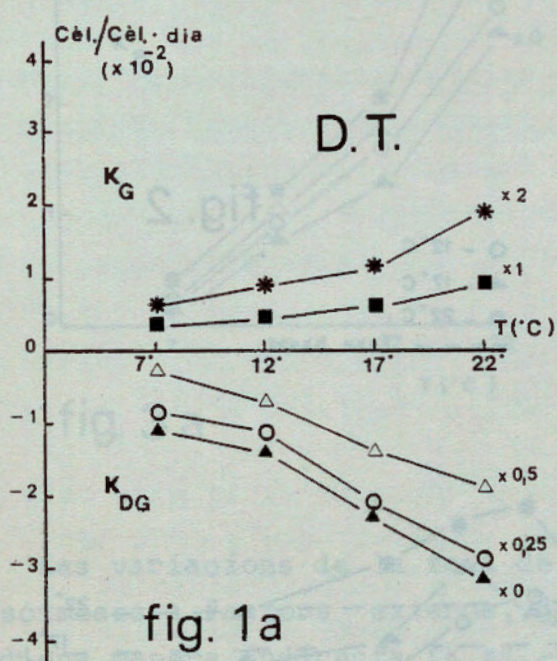
Una vegada han menjat i cap de 20 hores s'homogenitzen i es mesura en un fluorímetre la quantitat de fluoresceïna incorporada. Aquests valors es refereixen a la concentració de menjar i s'obté el volum ingerit i excretat.



### Resultats:

a) Variació de la taxa de producció ( $K_G$ ,  $K_{DG}$ ) segons la temperatura i la freqüència d'alimentació.

D'acord amb resultats obtinguts per altres autors en espècies diferents (Reynoldson, 66) (Calow, 77) la taxa de decreixement  $K_{DG}$  en dejú és proporcional a la temperatura (veure fig. 1a i 1b) per ambdues espècies.



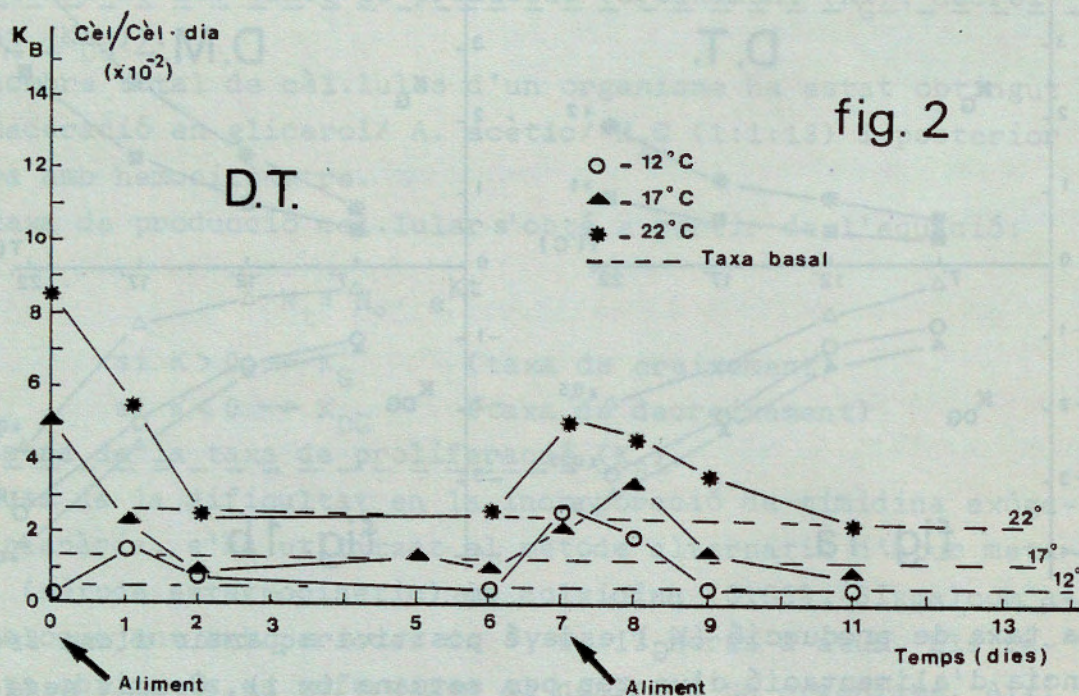
La taxa de producció ( $K_G$ ) esdevé positiva a partir d'una freqüència d'alimentació d'un cop per setmana ( $x=1$ ), éssent negativa per sota d'ella.

Per altre banda també es dona una relació directament proporcional a la temperatura. Això és una mica sorprenent perquè esperaríem que la taxa de creixement ( $K_G$ ) fos més alta quan més baixa és la temperatura, ja que la taxa de decreixement ( $K_{DG}$ ) és, en certa manera, una mesura del metabolisme (més baix a temperatures més baixes). Aquests resultats fan pensar que l'anabolisme fora diferent segons a la temperatura a què estan sotmesos els organismes, en el sentit que el grau d'aprofitament del menjar seria més gran a temperatures altes (les dades dels experiments amb aliment marcat així ho indiquen). Aquests organismes regorgiten part del menjar ingerit i en aquest cas ho farien en major freqüència o fins i tot en major quantitat a temperatures més baixes.



b) Variació de la taxa de proliferació ( $K_B$ ) i de la taxa de mort cel·lular ( $K_L$ ) en funció de la temperatura i freqüència d'alimentació.

Ambdues espècies mostren una taxa de proliferació que és constant al llarg del dejú prolongat, podent-se considerar com una taxa basal de proliferació que augmenta a mesura que puja la temperatura. En general, es dona una relació directa amb la temperatura (fig. 2) i amb la freqüència de nutrició (fig. 3a i 3b).



Donat que a temperatures altes i freqüències de nodriment elevades els valors de la taxa de creixement són alts i que la taxa de decreixement en dejú a aquestes temperatures també ho és, es pot pensar que l'organisme ajusta el seu anabolisme - en aquest cas representat per la taxa de proliferació - per aprofitar el màxim d'energia en forma d'aliment que ve de l'exterior. En aquest sentit les dades obtingudes en mesurar la quantitat d'aliment ingerit és major a temperatures altes, si bé la quantitat de menjar ingerit no regurgitat no presenta cap diferència significativa.



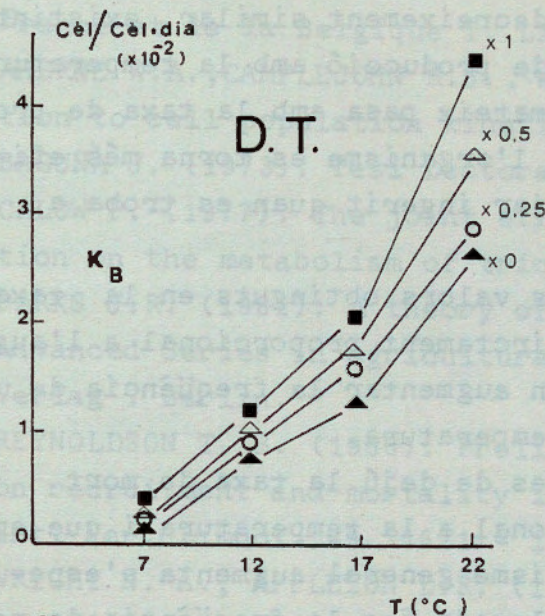


fig. 3 a

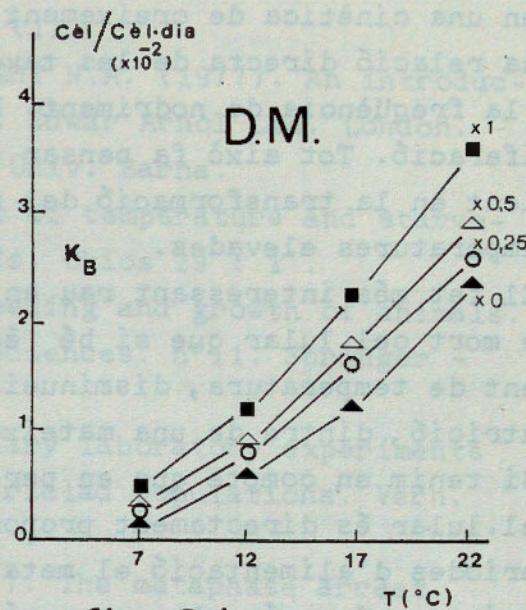


fig. 3 b

Les variacions de la taxa de mort cel.lular ( $K_L$ ) estan més sotmeses a factors externs, ja que la seva mesura es realitza d'una manera indirecta ( $K_L = K_B - K_G$ ). Els resultats obtinguts i representats en les figures 4a i 4b, mostren un augment de la taxa de mort cel.lular ( $K_L$ ) en augmentar la temperatura, donant-se una relació inversa amb la freqüència de nodriment.

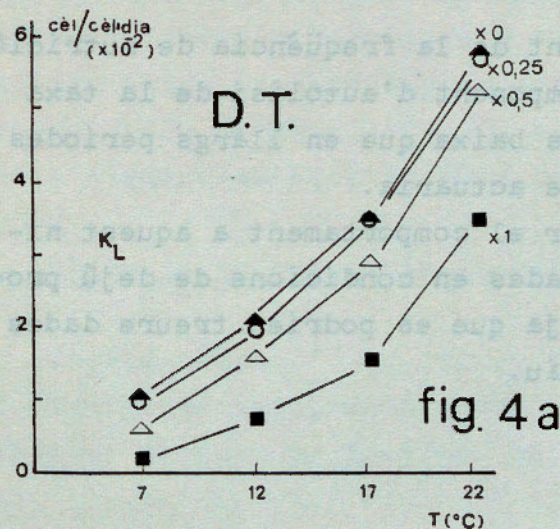


fig. 4 a

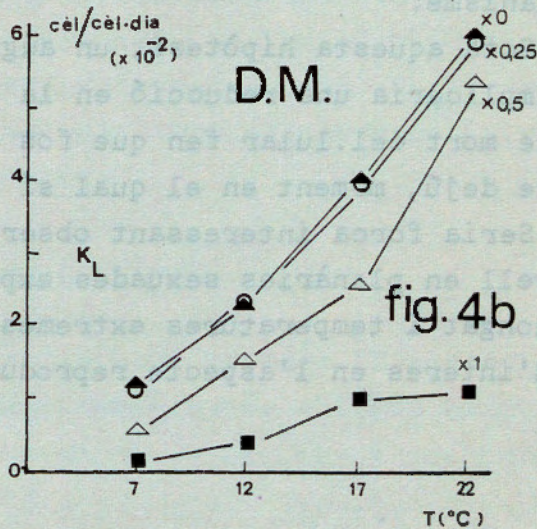


fig. 4 b



Discussió:

Dels resultats obtinguts es desprèn que ambdues espècies ( Dugesia (G) tigrina i Dugesia (S) mediterranea ) presenten una cinètica de creixement i decreixement similar, existint una relació directa de les taxes de producció amb la temperatura i la freqüència de nodriment. El mateix passa amb la taxa de proliferació. Tot això fa pensar que l'organisme es torna més eficient en la transformació del menjar ingerit quan es troba a temperatures elevades.

El fet més interessant rau en els valors obtinguts en la taxa de mort cel.lular que si bé és directament proporcional a l'augment de temperatura, disminueix en augmentar la freqüència de nutrició, dintre de una mateixa temperatura.

Si tenim en compte que en períodes de dejú la taxa de mort cel.lular és directament proporcional a la temperatura i que en períodes d'alimentació el metabolisme general augmenta s'esperaria que fos més alta quan més elevada fos la freqüència de nodriment.

Això fa pensar l'existència de dues components en la mort cel.lular en planàries asexuals; a) una component que podria ser directament proporcional a la temperatura i a la freqüència de nodriment i, per tant, directament proporcional al metabolisme general de l'organisme; b) l'altra es donaria quan l'animal entra en llargs períodes de dejú en què per mantenir el metabolisme basal, es produiria una autolisi cel.lular selectiva a fi de conservar les funcions indispensables per al manteniment de l'organisme.

Sota aquesta hipòtesi, un augment de la freqüència de nutrició implicaria una reducció en la component d'autolisi de la taxa de mort cel.lular fen que fos més baixa que en llargs períodes de dejú, moment en el qual sí que actuaria.

Seria força interessant observar el comportament a aquest nivell en planàries sexuals exposades en condicions de dejú prolongat i temperatures extremes, ja que es podrien treure dades d'interès en l'aspecte reproductiu.



Bibliografía:

- ABELOOS M. (1930). Recherches expérimentales sur la croissance et la régénération chez les planaries. Bull. Biol. de la France et de la Belgique T. LXIV (1).
- AHERNE W.A., CAMPLEJOHN R.S., WRIGHT N.A. (1977). An introduction to cell population kinetics. Edward Arnold Ltd. London.
- BAGUÑA J. (1973). Tesi Doctoral. Univ. Barna.
- CALOW P. (1977). The joint effect of temperature and starvation on the metabolism of triclads. Okios 29 : 1 .
- PARKS J.R. (1982). A theory of feeding and growth of animals. Advanced Series in Agricultural Sciences. n°11. Springer - Verlag . Berlin.
- REYNOLDS T. B. (1966). Preliminary laboratory experiments on recruitment and mortality in triclad populations. Verh. int. Ver. Limnol. 49 :1621 - 1631 .
- WRIGHT N. A., APPLETON D.R. (1980). The metaphase arrest technique. A critical review. Cell. Tissue Kinet. 13, 643-663

La TPI en la aproximación al nivel (identificación)

Consideremos (1) en primer lugar, y como primera idealización de un sistema vivo, un sistema termodinámicamente abierto en cuyo interior ocurren un conjunto de reacciones químicas a una tempe-