

FISIOLOGÍA VEGETAL

INVESTIGACIONES FISIOLÓGICAS SOBRE LA VEGETACIÓN LIBRE DEL PÓLEN Y DEL ÓVULO,
Y SOBRE LA FECUNDACIÓN DIRECTA DE LAS PLANTAS:

POR PH. VAN-TIEGHEM,

TRADUCIDAS POR EL SEÑOR DON MANUEL SORIANO,

SOCIO DE NUMERO.

Hace tres siglos solamente que fueron descubiertos los órganos sexuales de las plantas. Camerarius y Grew fueron los primeros en demostrar, por la experiencia, la utilidad de las diferentes partes de la flor en la producción del grano, el mantenimiento y la sucesión de la especie.

Los antiguos tenían ideas vagas sobre la probable existencia de los sexos en los vegetales: en tiempo de Herodoto, los babilonios distinguieron ya los dátiles machos y los dátiles hembras, y practicaban la fecundación artificial de estos últimos para obtener frutos con más seguridad. Se sabe que esta costumbre se ha conservado entre los árabes, donde existe desde tiempo inmemorial. Theophraste habla también de plantas machos y hembras; pero tanto éste como otros escritores, no conocían las partes de la flor que constituían los sexos.

En 1538 Caesalpin comenzó á distinguir con más precisión las flores machos y hembras en las plantas dioicas, y decía, que los machos eran estériles mientras las hembras daban frutos.

Como antes he dicho, Grew en 1682, y Camerarius en 1694, publicaron ya las diversas funciones de cada una de las partes de la flor, hablando entonces de la reproducción y de sus órganos particulares.

Después de esta época, Morland en 1703, Geoffroi en 1711, y Vaillant en 1717, no dejaron en sus descripciones duda alguna sobre las funciones de los órganos reproductores. Todo en las ciencias tiene sus partidarios y otros que les son adversos: los órganos sexuales han sido negados por algunos botánicos, pero creo que hoy, difícilmente se podrán negar su existencia y sus funciones.

El deseo de no limitarse con el *hasta aquí* en el estudio, ha hecho el que célebres naturalistas se hayan entregado con ardor á las investigaciones anatómicas y fisiológicas de las plantas, y hayan emprendido experiencias curiosísimas, con resultados más ó menos sorprendentes.

Todo en la naturaleza está hábilmente dispuesto, y mientras profundizamos más y analizamos sus misterios, admiramos la sabiduría infinita de Aquel Creador universal que, en cada átomo y en cada función nos revela su omnipotencia.

La Anatomía y Fisiología vegetales, progresan día á día, debido á los medios de que el hombre se vale para sorprender, lo que con la simple vista le sería imposible observar.

Una de las funciones más importantes de las plantas, la reproducción, ha sido el objeto de estudios recientes, á los que se ha consagrado el célebre naturalista Van Tieghem. Abrigo, señores, la persuasión de que sus experiencias aun no son bastante conocidas; y en esta noche que el Reglamento me impone el deber de dirigiros la palabra, quiero tener la satisfacción de daros á conocer las observaciones de Van Tieghem, para que encontrando admiradores entusiastas, prosigan el camino tan hábilmente traseado por él.

En la serie de investigaciones que ha emprendido Van Tieghem, aisla primero el pólen y el óvulo en el mundo exterior, para llegar á conocer las circunstancias necesarias á su desarrollo independiente; reúne en seguida estos dos cuerpos bajo las condiciones del medio ya determinado, para estudiar en seguida la accion del uno sobre el otro. Así, pues, tenemos que estudiar: primero, la vegetacion libre del pólen; segundo, la vegetacion libre del óvulo; tercero la fecundacion directa.

I.

VEGETACION LIBRE DEL POLEN.

El pólen, una vez que se ha desprendido de la antera, y que por cualquiera causa ha venido á depositarse sobre el estigma fresco, sabemos que emite un tubo que llamamos polínico, y que alargándose éste en el canal del estilo, desciende hasta la cavidad del ovario y viene á poner su extremidad inferior en contacto con el saco embrionario de un óvulo que viene á fecundar. Este es el hecho: examinemos ahora rápidamente las diversas opiniones de algunos autores sobre la produccion del tubo polínico. Para unos, la formacion del tubo polínico, seria debida á una simple extension fisica de la membrana interna, provocada por la endosmosis del líquido que baña el estigma. Para otros, el prodigioso alargamiento del tubo de que hablamos, puede llegar, sin que su membrana se adelgase mucho, millares de veces el diámetro de la célula primitiva, y ven al contrario un fenómeno de nutricion; mas como esta teoría no va acompañada por una prueba directa, no es lógico deducir la naturaleza de un fenómeno, por su intensidad.

Se necesita, por lo tanto, recurrir á la experiencia para resolver la cuestion; y como en las circunstancias naturales el fenómeno desconocido que se verifica en un medio vivo, se sobrepone á otros fenómenos que lo enmascaran, se necesita aislarlo enteramente primero, determinando la produccion del tubo polínico en un medio mineral artificial, y buscando las condiciones en medio de las que se verifica. Estas experiencias tendrán la doble ventaja de enseñarnos cómo pasan las cosas en el pistilo, y esclarecer otra faz de la cuestion que puede presentarse así: ¿qué sucede con la enorme cantidad de pólen que se escapa de los estambres de una flor, y que no cayendo di-

rectamente sobre el estigma donde efectúan su desarrollo, quedan abandonados en el mundo exterior?

Si se toma el pólen en el momento en que la antera se abre para dejarlo escapar, y se coloca el grano aun hinchado, en una atmósfera limitada á una temperatura de cosa de 20°, se verá que absorbe rápidamente el oxígeno del aire, y que lo reemplaza por un volúmen sensiblemente igual de ácido carbónico. Respira, pues, activamente, y no hay duda que la enérgica combustion de que los estambres son el sitio en el tiempo que precede á su dehiscencia, así como el desarrollo considerable de calor que resulta, no provienen para la mayor parte de la suma de las acciones individuales, de los granos de pólen que los estambres encierran. La actividad respiratoria del pólen disminuye siempre rápidamente, á medida que se deseca; pero ella se mantiene en seguida, durante largo tiempo, con una débil intensidad; y podremos decir, que para un estado dado del grano, la intensidad de su respiracion decrece con la temperatura.

Vemos, pues, lo que se verifica con los granos del pólen, libres, expuestos en el aire seco y á una temperatura dada: pueden, además, permanecer algun tiempo sin perder la facultad de desarrollar el tubo polínico, cuando se les coloque en circunstancias favorables; pero veamos ahora lo que pasa cuando se somete el pólen á la influencia del agua.

Desde Benard de Jussieu en 1739, y Needham en 1743, hasta hoy, se ha propagado un error: se dice que el grano del pólen sometido á la accion del agua, se rompe; esto no puede considerarse como un hecho general para todas las plantas: tenemos el pólen del *Narcissus pseudo-narcissus*, de la *Tritillaria imperialis*, *Salix caprea*, *Primula sinensis*, *Viola odorata*, y otras que, en lugar de reventarse en el agua pura, producen, al contrario, tubos extremadamente largos en las condiciones que se van á mencionar.¹

Bajo el agua privada de aire, y á una temperatura favorable, el pólen de estas plantas se hincha primero, y despues se conserva indefinidamente inalterado. Lo mismo pasa si se somete el pólen á la influencia del agua aerea da y á una temperatura cercana á 0 grados.

Por lo que se lleva mencionado, se ve, que dos de estas tres condiciones, sin la tercera, el aire y el calor sin el agua; el agua y el calor sin el oxígeno

¹ Existen granos, los del Ricino, por ejemplo, que no se abren en el agua pura y que se rompen, al ménos en gran número, en una solución espesa de goma arábica. Este hecho demuestra, que la explicacion ordinaria de la ruptura, basada en la irrupcion violenta del líquido externo, debida á su débil densidad relativa, no se aplica á todos los casos.

no; el agua y el aire sin el calor, son impotentes para provocar la formación del tubo polínico.

Reúnanse, al contrario, las tres alrededor de la célula, es decir, colóquese el pólen en el agua aereada á una temperatura favorable que dependerá de la naturaleza de la planta, pero que podrá ser en general de 15° á 20°. Algunas horas despues se verá al grano formar bajo el agua un magnífico tubo sin tabique, ordinariamente simple, comunmente envuelto en espiral y en el que la circulación del protoplasma se verifica con una admirable exactitud, que llega en ciertos casos á adquirir hasta 200 ó 300 veces el diámetro de la célula primitiva ántes de cesar de alargarse. Llegado aquí, la extremidad del tubo se hincha y adquiere la forma, ya esférica, ya piramidal, de un diámetro igual, ó al ménos tres ó cuatro veces mayor al del grano; ya plana, perpendicularmente á la dirección del tubo, en forma de pié, y otras veces como que se bifurca y afecta la forma de una Y: en esta extremidad el protoplasma se concentra, miéntras que el resto del tubo no contiene sino un líquido hyalino, acumulándose en definitiva, en gránulos azotados, desarrollados. No parece que la extremidad hinchada esté dividida transversalmente por un tabique. Una vez que esto se ha verificado, no es raro ver la membrana perforarse en el vértice del hinchamiento terminal, ya en un solo punto por donde se escapa la mayor cantidad del plasma en forma de una gota gruesa, ya en muchos puntos, por cada uno de los cuales salta una gota pequeña. El desarrollo del tubo polínico en el agua aereada, varia en cada una de la plantas.

En cuanto á los fenómenos químicos que se verifican miéntras el tubo polínico se alarga en el líquido, fácil es de apreciarlos analizando la atmósfera circunvecina y en la que se demuestra que el oxígeno ha desaparecido, siendo reemplazado por un volúmen sensiblemente igual de ácido carbónico. Esta combustion se verifica principalmente en el aceite y el almidon que la célula tiene en reserva; los granos amiláceos desaparecen á medida que el tubo se forma, y la azúcar que resulta alimenta la respiracion.

La necesidad del oxígeno y su absorcion por el tubo polínico en vía de desarrollo, es el punto capital de estas experiencias: una experiencia sintética muy sencilla puede persuadirnos aun más en lo que se ha señalado.

Si se pone una gota de agua comun sobre una lámina de vidrio, se vierte sobre ella un poco de pólen y se cubre con otra lámina, colocando el todo en una atmósfera húmeda y á una temperatura conveniente, y si se explora cada hora, por ejemplo, al microscopio, se verá, que no todas las zonas del cuerpo en observacion tienen el mismo grado de desarrollo: los granos de pólen periféricos tienen unos magníficos tubos, miéntras que los centrales,

que en los primeros instantes de la experiencia han absorbido todo el oxígeno disuelto, y que no lo pueden recibir del exterior, por impedírselos los granos periféricos, permanecen indefinidamente alterados. Si después se separan las dos láminas de vidrio, se da acceso al aire, se cubre y se vuelven á observar, se verá de qué manera se han desarrollado los ya dichos tubos polínicos.

De estos hechos se debe concluir, que las condiciones necesarias del medio, y suficientes para la producción del tubo polínico, es decir, el agua, el oxígeno y una temperatura favorable, son los mismos que para la germinación de un grano ó de un espora; y bajo estas condiciones, el fenómeno se verifica de la misma manera; el pólen, por lo tanto, se puede decir que es una pequeña planta que respira, se nutre y se desarrolla.

Hasta aquí se ha visto ya lo que pasa con el pólen en el pistilo; véase ahora lo que sucede con el pólen que se pierde de la flor.

Cualquiera que sea el lugar hácia donde el pólen sea trasportado por la casualidad, ántes de haber perdido por una respiración muy prolongada al estado seco, su facultad germinativa, encontrará á la vez el agua, el aire y el calor, con estos elementos germinará y formaráse la pequeña planta efimera, cuya forma y grado de desarrollo dependerán de las cualidades nutritivas del medio: y tal debe ser la suerte reservada á los granos del pólen que no caen sobre el estigma.

Sentados los principios anteriores, positivos, supuesto que son el fruto de la experiencia, se podrá concebir ahora cómo el agua viene á ser perjudicial á la reproducción en la flor al momento de abrirse: ¿qué debe pasar entonces? El agua que cae sobre el estigma en el momento en que los granos polínicos se depositan allí, lejos de destruirlos, les viene á dar dos de los elementos para su desarrollo, el calor allí lo tienen; los tubos polínicos se formarán y se dirigirán en medio del agua fuera del pistilo, agotando su fuerza vital; el óvulo, por tanto, no podrá ser fecundado.

La consideración anterior trae necesariamente envuelta esta cuestión: ¿La duración del tubo polínico, cuando se desarrolla fuera del pistilo, es necesariamente efimera? Se ha dicho arriba el límite probable de la duración, teniendo en cuenta los datos suministrados por la experiencia, cuando se coloca el pólen en medios generales; pero cambiando estos medios, acaso pueda prolongarse esa duración del tubo.

Para esto, se necesita estudiar las causas del detenimiento del desarrollo del tubo polínico, y si de su estudio resultan conocerse de una manera probable, si no cierta, y se trata de contrarestarlas, podrá acaso llegarse á dilucidar la verdad: pueden reducirse á dos estas causas.

1.^a El agua ordinaria aereada, basta comunmente para los primeros desarrollos del grano del pólen, que se verifican á expensas de los materiales de reserva acumulados en el protoplasma; pero no es ménos cierto que este liquido no le lleva alimentos nuevos en cantidad suficiente. Si se quiere prolongar la vida del tubo, conviene, pues, agregar al agua sustancias apropiadas y de calidad variable, segun su naturaleza; se necesita cultivarlos y nutrirlos.

2.^a Una vez formados los tubos polínicos, son invadidos por dos especies de enemigos; los infusorios por una parte, y por la otra las *Toruláceas* y el *mycelium* de diversas especies de *Mucedineas*: ávidas de oxígeno como los tubos, estas producciones extrañas invaden precisamente la region del liquido que ellos habitan; se establece entre unos y otros una lucha por la vida, y como los hongos se multiplican con extraordinaria rapidez, aniquilan bien pronto á los tubos. Fácilmente se pueden distinguir á éstos entremezclados con los filamentos ramosos y con tabiques de diversas especies de *mycelium*: estas dos especies de organismos, no tienen otro lazo de union, que su antagonismo fisiológico, y las fuentes de donde nacen siempre son distintas.

Una vez conocidas las dos causas que acabamos de señalar, como son conexas, puede vencérselas por el mismo medio, es decir, especializando el medio artificial y aproximando su constitucion, tanto cuanto sea posible, á la del medio nutritivo al que está destinado un pólen dado; de manera que el medio que sea benéfico á los tubos, sea dañoso para sus enemigos.

Si se disuelve en el agua una pequeña cantidad de bitartrato de amoniaco, este liquido ácido es impropio al desarrollo de los infusorios á la vez que suministra al tubo polínico un alimento carbonado y azoado que le falta: se ha quitado un elemento á unos enemigos, y se da otro al tubo polínico para su desarrollo, pues está probado que el liquido secretado por las papilas estigmáticas, estilares y ovarianas, es francamente ácido; opinion además comprobada por el hecho de que los infusorios jamás invaden el pistilo.

Si al liquido que se ha mencionado, se agrega una pequeña cantidad de cenizas de levadura, se dará al pólen los elementos minerales que le son necesarios.

Pero este liquido así preparado, si es cierto que no favorece á los infusorios, tambien lo es que no daña en manera alguna al desarrollo de los hongos, y que al contrario, les favorece; es necesario adicionarle otra sustancia desfavorable para ellos, la azúcar, la goma, etc.; pero si el liquido así preparado sirve para algunos granos polínicos, no es útil para todos, y este estudio curioso es el objeto del que se ocupa en la actualidad el célebre naturalista Van Tieghem.

II.

VEGETACION LIBRE DEL OVULO.

Para emprender las experiencias sobre este punto, es necesario abrir el pistilo de una flor en el instante que precede á la dehiscencia de sus anteras; despréndanse de la placenta un cierto número de óvulos y véanse sus modificaciones en las diversas circunstancias del medio exterior.

Colocados los óvulos en el aire seco y á la temperatura ordinaria, absorben de luego á luego el oxígeno del aire y desprenden un volúmen casi igual de ácido carbónico: por este fenómeno se ve que han respirado. Tenemos explicada la activa combustion que se verifica en el pistilo en el instante que una flor se abre, si se atiende á que esta combustion es la suma de las parciales de los óvulos que encierra. Abandonados los óvulos se desecan bien pronto.

En el agua sin aire, los óvulos pierden su transparencia, se ponen pardos y mueren como asfixiados.

En el agua aereada, pero á una temperatura próxima á cero, los óvulos no respiran y es notable su alteracion. Reúnanse, al contrario, en derredor de un óvulo las tres condiciones juntas que acabamos de separar; colóquense en el agua aereada, ó mejor en el aire muy húmedo y á una temperatura favorable, y se verá cómo continúan viviendo cierto tiempo. Se desarrollará poco, pues que se ha quitado del pistilo ántes que el saco embrionario haya alcanzado todo su volúmen y ántes que haya formado sus vesículas embrionarias y sus células antípodas; y esto no obstante, podrá encontrarse despues de algunas horas el saco agrandado, y las vesículas y células desarrolladas.

Así viviendo el óvulo en estas condiciones, respirará de una manera continua, y concentrando por este mismo hecho toda su actividad en el saco embrionario, en donde se verifica en gran parte este fenómeno respiratorio.

El óvulo en estas circunstancias, es bien pronto invadido por los infusorios y los hongos, y se necesita ganar tiempo en la investigacion y retardar cuanto sea posible la aparicion de estos séres extraños sin dañar al óvulo.

Hemos visto que la célula macho puesta en libertad por el estambre, y colocada en las condiciones que se han referido, germina, es decir, respira, se nutre y se desarrolla; de la misma manera el óvulo con la célula hembra que encierra, arrancado artificialmente del pistilo y colocado en las mismas condiciones favorables, se mantiene vivo, es decir, se nutre, respira y se des-

arrolla. Pero la vida de estos dos elementos reproductores mantenidos de esta manera en el aislamiento es efímera; el tubo polínico se detiene bien pronto en su desarrollo y el óvulo perece.

III.

FECUNDACION DIRECTA.

Para estudiar la fecundacion directa, artificialmente, se necesita colocar la célula hembra bajo la accion de la célula macho y en las condiciones de vida que ántes se han señalado. Si se colocan en una gota de agua granos polínicos por una parte, y por la otra, tambien en una gota de agua cierto número de óvulos, y se juntan en el momento que los tubos polínicos comienzan á desarrollarse, se verá la extremidad de un tubo polínico en via de alargamiento encontrar un óvulo, penetrar en su micrópila, sea directamente, sea despues de haberse alargado deslizándose sobre la superficie, y esto es todo. El complemento de esta funcion nos lo da el estudio anatómico del óvulo hecho algunas horas despues: él demuestra que la extremidad del tubo, despues de haberse insinuado entre las células del cono terminal de la nucela, ha venido á apoyarse dilatándose sobre el vértice del saco embrionario, donde se instala en forma de ámpula contrayendo adherencias. El lugar en el que este fenómeno se verifica está lleno, en vez de las vesículas protoplásmicas difluentes, de un cuerpo pluricelular de estructura más ó ménos complicada, segun la duracion de la experiencia, y que es el embrión en las primeras fases de su desarrollo.

La fecundacion, por lo tanto, se verifica directamente en un medio artificial, apropiado y hasta cierto punto bajo la vista del observador, entre el tubo polínico desarrollado en aquel lugar y el óvulo quitado al pistilo del mismo vegetal, conservado vivo, y que ha podido formar sobre el lugar mismo, vesículas protoplásmicas. Las experiencias emprendidas con objeto de obtener directamente la fecundacion entre el tubo polínico y el saco embrionario, anteriormente aislado del óvulo, han quedado hasta hoy sin resultado.

Si pues la fecundacion puede tener lugar sin el concurso del pistilo, segun lo acabamos de demostrar en las experiencias anteriores, ¿cuál es el papel que este órgano desempeña en la mencionada funcion fisiológica?

Dos son las principales fases bajo las que se le puede considerar: primero, como nutritivo, segundo, como protector. Como nutritivo, el estigma

ofrece al grano polínico un suelo húmedo y aereado, donde se verifica su germinación: este suelo es ácido y viscoso, y por esta razón es impropio al desarrollo de los infusorios y de los hongos, sirviendo á la vez también como protector contra estos enemigos. Hay más, el mismo estigma obrando como un filtro, no deja pasar los granos polínicos de otras flores, previniendo así los desarrollos híbridos; la fecundación no se puede verificar sino solo con pólen de plantas semejantes.

México, Octubre 23 de 1873.
