

## Un método de diafanización para el estudio de la distribución del sistema vascular en órganos florales

por GENEVIEVE DAWSON

Dadas las grandes dificultades que existen para interpretar sistemas vasculares de carpelos y otros órganos florales en base a cortes seriados, los doctores Irving W. Bailey y Charlotte G. Nast han ideado un sencillísimo método para expandir, ablandar y diafanizar materiales de herbario que facilita y acelera considerablemente dichas investigaciones. Este método fué publicado en detalle en uno de sus trabajos sobre la morfología comparada de las Winteraceas (1). He tenido oportunidad de utilizar este método durante mi estada en la Universidad de Harvard, en cuyos laboratorios de botánica realicé trabajos sobre anatomía y morfología comparada de *Escallonia* bajo la dirección de los precitados autores. Por tal razón y dado que esta publicación ha pasado en general inadvertida, creo que puede ser de utilidad reseñar brevemente dicho método añadiendo algunas observaciones personales.

El método consiste fundamentalmente en la utilización de hidróxido de sodio (NaOH) diluído. Aunque para el estudio de un sistema vascular complicado sean indispensables cortes en serie, la diafanización de las flores en una solución débil de NaOH permite su observación por transparencia y puede servir, además, como control de los ejemplares seccionados. El NaOH no sólo restablece la forma y tamaño originales del material seco, sino que también hace desaparecer las inclusiones celulares que no dejan ver con claridad los haces. También sirve para ablandar el material que luego podrá ser incluido y cortado en serie.

Se puede aplicar a hojas y a flores enteras o partes de flores (sépalos, pétalos, carpelos, estambres, etc.) para ver el sistema

---

(1) Journal of the Arnold Arboretum, 24: 472-481. 1943.

vascular y otros detalles. En el caso de las hojas, si son pequeñas pueden tratarse enteras, pero si son grandes conviene cortarlas en trozos transversales.

Se debe controlar el tiempo según la consistencia de la flor: si es muy ténue bastarán algunas horas para quedar completamente transparente, en cambio si es gruesa se deberá dejar hasta que pierda totalmente su color.

El método comprende las siguientes etapas:

a) El material se trata con agua hirviendo en un vasito de precipitación hasta que esté saturado y completamente libre de aire (tiempo de duración de 5 a 15 minutos, hasta que el material quede en el fondo).

b) Se coloca el material en un pequeño frasco de vidrio de capacidad aproximada 30 centímetros cúbicos, se llena de agua y se agregan 5 pastillitas de NaOH (1 a 1.5 gramos). El frasco debe cerrarse bien para evitar la evaporación y colocarse en la estufa a una temperatura de 55° centígrados hasta que el material quede completamente transparente (generalmente basta dejarlo de un día para otro).

c) Una vez diafanizado, cuidadosamente se pondrá el material en un cristizador con agua corriente y se harán dos o tres cambios para dejar el material libre de NaOH.

d) Una vez lavado se conserva el material en alcohol 95° en frascos más pequeños, bien tapados.

Por lo común el sistema vascular se ve más claramente en alcohol porque los ejemplares sin montar pueden ser fácilmente manejados para examinarlos desde cualquier ángulo. La coloración del material no es necesaria para el examen a simple vista ni para la fotomicrografía (ver láminas I, II y III del trabajo citado). El método no es adecuado cuando los órganos son excesivamente hirsutos o cuando contienen numerosas esclereidas. En tales casos será indispensable realizar cortes en serie.

Para obtener preparaciones definitivas se puede montar el material sin colorear pasándolo por alcohol absoluto, xylol, hasta bálsamo de Canadá. La claridad de la disposición de los hacecillos depende del índice de refracción del medio y de la consistencia de los tejidos. Si se desea obtener cortes seriados, se puede

incluir el material en parafina, siguiendo el procedimiento común y colorar los cortes con Haematoxilina de Heidenhain y Safranina.

Para órganos muy silicificados como los de las Gramíneas, suele utilizarse el método del ácido fluorhídrico pero este método presenta algunas dificultades derivadas del empleo de dicho ácido. El señor Ovidio Núñez me comunica que ha ensayado la técnica del NaOH en espiguillas de diversas especies de Gramíneas realizando inclusiones en parafina para obtener cortes seriados y sus resultados han sido muy satisfactorios.