

182
29



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**ESTUDIO ESTRUCTURAL E HISTOQUIMICO DEL
DESARROLLO DE LATICIFEROS EN LA SEMILLA DE
Ipomoea purpurea (Convolvulaceae)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

MARIA DEL ROSARIO RODRIGUEZ GUILLEN

México, D. F.

1990

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
OBJETIVOS	4
ANTECEDENTES	5
MATERIAL Y METODO	22
RESULTADOS	25
DISCUSION	41
CONCLUSIONES	47
BIBLIOGRAFIA	49

RESUMEN

Se estudió el desarrollo de los laticíferos en el embrión de *Ipomoea purpurea*, utilizando para su observación microscopía fotónica, electrónica de transmisión y de barrido.

Semillas cosechadas en la localidad de San Pedro Atocpan, Distrito Federal fueron sembradas y las plantas se dejaron crecer en condiciones de invernadero. A partir de la antesis se colectaron frutos cada 24 hr., hasta completar 30 días de desarrollo.

El material recolectado fué fijado en una mezcla de glutaraldehído 3.0 % - paraformaldehído 1.5% en buffer de colidina $\text{pH} = 7.2$, se incluyeron en Epón y se hicieron cortes finos en un ultramicrotomo de (2-6 μm .) para microscopía fotónica y ultrafinos de (700-1400 Å) para microscopía electrónica y contrastados con plomo y citrato de uranilo. Semillas maduras fueron rehidratadas y fijadas en la solución de glutaraldehído-paraformaldehído y postfijadas en OsO_4 al 1%, deshidratados en acetona y llevados a punto crítico, con baño de oro para realizar observaciones en el microscopio electrónico de barrido.

Se aplicaron pruebas histoquímicas en fresco. Los resultados obtenidos muestran que durante los primeros 14 días de desarrollo de la semilla no existen indicios de diferenciación celular que den origen a los laticíferos en el cotiledón. Es hasta el día 18 que se pueden observar las primeras células en diferenciación.

Estas aumentan su volúmen, el núcleo se hace más conspicuo y el citoplasma presenta pequeñas vacuolas que posteriormente coalescen formando una sola, que aumenta en tamaño, relegando al núcleo y citoplasma a la periferia.

El núcleo y citoplasma degeneran, quedando la membrana vacuolar (tonoplasto) adosada a la membrana plasmática del laticífero.

Los laticíferos sólo se encuentran en los cotiledones del embrión y su desarrollo es asincrónico.

Las pruebas histoquímicas aplicadas en semillas maduras rehidratadas dieron resultados positivos para polisacáridos insolubles y lípidos, y negativos para almidón y proteínas.

INTRODUCCION

En todos los vegetales terrestres se da una pérdida continua de productos finales del metabolismo que pueden ser de carácter gaseoso (especialmente O_2 , CO_2 y vapor de agua). Los tejidos en los cuales se verifica este intercambio o pérdida de substancias a la atmósfera deben considerarse como tejidos excretorios. Existen también sistemas secretores específicos internos y externos, unicelulares o pluricelulares. (Strasburger, 1985).

Entre los sistemas secretores encontramos a los laticíferos, los cuales han sido motivo de estudio sobre todo en plantas de importancia económica como en el caso de Ficus elástica, y Hevea brasiliensis de las cuales se extrae el caucho comercial. Los laticíferos poseen látex, el cual está compuesto por muchas substancias en solución y suspensión coloidal, algunas de las cuales, son importantes en la industria y la medicina. (Fahn, 1968).

Se han realizado estudios de este sistema secretor en tallos, hojas y raíces de algunas plantas. Particularmente en semillas, los trabajos son escasos, sin embargo sobresalen los realizados sobre semillas de Euphorbia, Asclepias y Papaver.

Los laticíferos están presentes en aproximadamente 12500 especies de 900 géneros, pertenecientes a cerca de 20 familias, (Van Die, 1955; cit. por Esau 1976). Estas pertenecen en su mayoría a las dicotiledóneas, aunque los laticíferos han sido encontrados en algunas familias de monocotiledóneas.

El hecho de que los laticíferos están restringidos a un pequeño número de familias, y que en algunas de las cuales no haya evidencia de relación taxonómica cercana, sugiere que la capacidad de producir látex, ha evolucionado más de una vez (Metcalf, 1966; cit. por Fahn, 1979).

Scharfftein (1932, cit. por Esau, 1965) y Rosowski (1968, cit. por Fahn, 1979; cit. por Alva, 1988), quienes trabajaron con algunas especies de Euphorbia, mencionaron que su sistema laticífero completo es derivado de las pocas células iniciales que ya están presentes en el embrión.

Cronquist, (1981) utiliza la presencia del látex como carácter diagnóstico de la familia Convolvulaceae, sin embargo existen muy pocos trabajos al respecto.

En cuanto a investigaciones sobre laticíferos en semillas de Ipomoea purpurea, se tiene el registro de Alva (1988), el cual realizó estudios preliminares sobre su Ontogenia en las semillas de dicha planta aplicando la técnica de microscopía de Fluorescencia para su determinación.

Este trabajo utiliza una metodología distinta a la de Alva (1988) para estudiar los aspectos estructurales de los laticíferos, aplicando la inclusión en Epón para la observación de los cortes al microscopio fotónico y al microscopio electrónico de transmisión para el caso de la microscopía electrónica de barrido no se utiliza material incluido en epón. Se realizaron pruebas histoquímicas para la detección de compuestos orgánicos contenidos en el látex.

OBJETIVOS

- 1.0.- Determinar el tiempo de aparición de los laticíferos durante el desarrollo del embrión utilizando para su observación la microscopía fotónica.
- 2.0.- Describir los cambios estructurales del laticífero desde su aparición hasta su madurez.
- 3.0.- Determinar la composición química del contenido de los laticíferos mediante pruebas histoquímicas cualitativas.
- 4.0.- Describir algunos aspectos ultraestructurales en los laticíferos maduros.

ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

Existen sistemas secretores específicos internos y externos unicelulares o pluricelulares cuyo metabolismo está orientado hacia la producción unilateral y sobreabundante y luego a la separación de determinados metabólitos que, al contrario de lo que sucede en el caso de las sustancias de reserva, son expedidos fuera del circuito metabólico.

Cuando los productos resultantes del metabolismo se depositan en el interior de las vacuolas de las células en que se han originado se habla de tejidos e idioblastos secretores. (Strasburger, 1985).

A esta denominación corresponden los laticíferos y pueden encontrarse como células aisladas o como conductos multicelulares. (Cronquist, 1982).

Essau (1975) define a los laticíferos como células o series de células unidas formando sistemas que atraviesan distintos tejidos del cuerpo de la planta y que contienen un fluido llamado látex. El término laticífero deriva de la palabra latina, "latex" que significa "jugo". Para Fahn (1968) los laticíferos son estructuras especializadas que se encuentran en algunas plantas como el caucho, la amapola y el euforbio, estos pueden formarse por fusión de las células para constituir un vaso o por la elongación y/o ramificación de una sola célula cenocítica.

CLASIFICACION DE LOS LATICIFEROS

Los laticíferos pueden dividirse en dos grandes tipos:
No articulados y articulados.

Los laticíferos no articulados son aquellos que pueden desarrollarse de una simple célula con grandes elongaciones que algunas veces se ramifican. También son llamados células laticíferas. Los articulados consisten de series de células que usualmente se alargan.

El final de las paredes de las células quedan completas o se perforan con poros o desaparecen completamente, a este tipo suele llamarse también vasos laticíferos. (De Bary, 1877 cit. por Fahn, 1968).

Las variaciones estructurales de los tipos de laticíferos en general permiten establecer las correspondientes subdivisiones. Algunos de los laticíferos articulados constan de largas cadenas celulares o tubos compuestos, no conectados lateralmente unos con otros. Algunos laticíferos forman anastomosis laterales con tubos o cadenas similares, combinándose en una estructura de forma reticular. Estas dos formas de laticíferos pueden desinarse como laticíferos articulados no anastomosados y laticíferos articulados anastomosados respectivamente.

Los laticíferos no articulados también varían en cuanto a grado de complejidad. Algunos forman tubos largos más o menos rectos; otros se ramifican reiteradamente, de forma que cada célula origina un vasto sistema de tubos. Los nombres apropiados para estos dos tipos de estructuras son: laticíferos no articulados no ramificados y laticíferos no articulados ramificados. (Esau, 1976).

Ruiz Oronoz (1962), clasifica a los laticíferos como : articulados y continuos. El término continuo equivale en definición al tipo de laticífero no articulado.

COMPOSICION Y ESTADO FISICO DEL LATEX.

Los laticíferos contienen un jugo lechoso llamado látex. (Brown, 1935). El látex es un líquido viscoso, que producen algunas angiospermas. Es una suspensión o en ciertos casos una emulsión, la composición química puede variar en diferentes especies. (Fahn, 1968). Es un líquido con un diferente índice de refracción. (Dahlgreen y Clifford, 1982).

El látex es una sustancia que consta de un líquido matriz con pequeñas partículas orgánicas en suspensión. El líquido puede ser considerado como el jugo celular del laticífero. (Frey-Wissling, 1935; cit. por Esau, 1976).

Las partículas dispersas son generalmente hidrocarburos, como: terpenos, aceites esenciales, bálsamos, resinas, alcanfor, carotenoides y caucho. (Bonner y Galston, 1947; cit. por Esau, 1978 & Fahn, 1968).

Strasburger (1985), menciona que en el látex de los tubos tanto continuos como articulados, se encuentran disueltos, - azúcares, taninos, glúcidos, a veces alcaloides como en el látex de Papaver, y especialmente malato cálcico; además en Ficus carica y Carica papaya también proteasas. Pueden hallarse en forma de gotitas de emulsión, esencias, ceras y gomorresinas, así como los politerpenos; caucho y gutapercha. En estado sólido, almidón, muchas veces granos de proteína y en algunos casos también cristales albuminoides.

Las resinas y particularmente el caucho, cuya fórmula empírica es $(C_5H_8)_n$, son los componentes característicos de muchas plantas. Los terpenos se encuentran en cantidades variables según las distintas clases de plantas. (Fahn, 1976).

En Hevea el caucho puede representar del 40% al 50% del látex, las partículas son esféricas y alcanzan 0.75um., de diámetro. Tienen una estructura interna homogénea y están limitadas por una capa de unos 100 A, probablemente una capa lipoproteica responsable de la estabilidad coloidal de las partículas. (Andrews & Dickenson, 1961; cit. por Esau, 1976).

El látex de distintas plantas puede ser claro (Morus Nerium oleander) o lechoso (Asclepias, Euphorbia, Ficus, Lactuca). Es pardoamarillento en Cannabis y amarillo o anaranjado en las papaveráceas. (Fahn, 1968; Esau, 1976; Cronquist, 1982).

Los laticíferos liberan el látex cuando se cortan. El flujo del látex es un flujo a presión. (Bonner & Galston, 1947; cit. por Fahn, 1976).

En la planta intacta los laticíferos están turgentes y en equilibrio osmótico con las células parénquimáticas circundantes. Cuando se corta el laticífero, se establece un gradiente de turgencia y la corriente o flujo se dirige hacia el corte donde la turgencia ha sido reducida a cero. Este flujo cesa finalmente y la turgencia es restablecida. (Spencer, 1939c, 1939a; cit. por Esau, 1976)

ORIGEN

En general, los tubos laticíferos continuos se forman en el embrión joven a expensas de células meristemáticas que ya en la plántula se convierten en tubulosas y plurinucleadas y

después crecen a la par que el vegetal, en dirección más o menos paralela al eje longitudinal de sus órganos, se ramifican progresivamente, penetran en todos los órganos y pueden de este modo alcanzar muchos metros de longitud.

También pueden fusionarse varias células excretoras por la desaparición de los tabiques que las separan. Si sólo desaparecen los tabiques transversales se forman receptáculos tubulosos como los tubos laticíferos articulados. Estos son en todo semejantes a los continuos y contienen también un látex análogo pero se diferencian de ellos en que se originan por fusiones celulares a partir de series de células gracias a la ulterior desaparición de los tabiques transversales, lo que se aprecia con dificultad en estado adulto. (Strasburger, 1985).

Mahlberg y Sabharwal (1968), realizaron un estudio sobre el origen y desarrollo temprano de laticíferos no articulados en el embrión de Euphorbia marginata, encontraron que los laticíferos surgen en el nodo cotiledonario del embrión joven durante la etapa temprana de corazón. Las iniciales surgen progresivamente en el desarrollo del embrión, los primeros laticíferos se diferencian simultáneamente con, o poco antes de los elementos del procambium.

Milanez y Neto (1956), en un trabajo realizado sobre origen de laticíferos de embrión de Euphorbia pulcherrima, menciona que la formación del sistema laticífero se inicia al nivel de plano de intersección de los cotiledones (plexo nodal), en regiones limitadas, que denominan "focos". Ahí puede ocurrir la fusión de protoplastos y tal vez de núcleos.

Mahlberg (1961; cit. por Esau, 1965; cit. por Alva, 1988), encontró en Nerium que el número inicial de laticíferos es constante y que pueden ser distinguidos en el embrión donde se presentan en el nodo cotiledonario, del cuál se mandan haces hacia los cotiledones, el hipocotilo y la radícula.

En el curso del desarrollo de ciertas especies de Euphorbia, las células laticíferas se encuentran en la circunferencia del cilindro central y se ramifican en las hojas y la médula.

Mahlberg y Sabharwal (1966), encontraron que en el desarrollo del embrión de Euphorbia marginata, aparecen etapas sucesivas de mitosis en el núcleo de los laticíferos y que el estímulo mitótico no comienza simultáneamente en todos ellos.

CITOLOGIA.

Los vasos laticíferos son cilíndricos y sus membranas celulósicas lisas y elásticas, suelen carecer de engrosamientos (Ruíz Oronoz, 1962).

Spencer (1939; cit. por Fahn, 1968), agrega, que la pared celular es enteramente primaria y puede ser del mismo grosor que el de las células vecinas del parénquima. Los vasos laticíferos constan por consecuencia de células vivas plurinucleadas, además de una capa de protoplasma adyacente a la pared interna. (Pizón, 1925). La demostración de la existencia de un protoplasma parietal es difícil de obtener.

Al igual que en los elementos cribosos, no existe una clara demarcación entre el citoplasma y la vacuola en los laticíferos maduros (Bonner y Galston, 1974; Sperlich, 1939; cit. por Esau, 1976), y en el material seccionado el contenido sufre un desplazamiento considerable.

Según Milanez (1946, 1949), las pequeñas vacuolas de los laticíferos jóvenes de Hevea y Manihot son absorbidas por el citoplasma en lugar de fusionarse formando una gran vacuola. Tal desarrollo implica que, en los laticíferos maduros, el citoplasma

esta muy hidratado y que el látex forma parte del citoplasma encogido en el centro de los laticíferos donde el látex ha dejado de fluir (Frey - Wissling, 1935; Moyer, 1937; cit. por Esau, 1976).

La mayor parte de las pruebas sugieren que las partículas del látex se forman en los mismos laticíferos, ya en el citoplasma, ya en los plastidios (Bonner y Galston, 1947; Frey-Wissling, 1935; Milanez, 1946 y 1949; cit. por Esau, 1976). Si los laticíferos tienen una vacuola definida debe admitirse el subsiguiente derrame de las partículas del látex en el jugo vacuolar que pasa a formar parte del látex. Esta interpretación es paralela a la dada al respecto a la relación entre protoplasto y sustancias muciláginosas de los elementos cribosos.

ULTRAESTRUCTURA.

La microscopía electrónica ha venido a representar una gran ayuda para la investigación, y se ha aplicado con gran acierto en estudios sobre el sistema laticífero.

Nessler y Mahlberg (1977), describen la ontogenia de laticíferos de Papaver somniferum y presentan evidencia citoquímica sobre el origen del látex en el retículo endoplásmico.

Concluyen que el proceso de perforación de la pared de laticíferos se lleva a cabo por la presencia de enzimas degradadoras de la pared, (celulasas), más que, por la presión que pueda ejercer el látex.

Nessler y Mahlberg en (1978) examinaron laticíferos de Papaver bracteatum y descubrieron que la diferenciación se lleva a cabo a partir del procambium de la radícula, encontrándose

asociados con el floema después de 72hr. de sembradas las semillas, detectándolos por formación de vacuolas dentro del tonoplasto.

En un trabajo realizado por Wilson y Mahlberg en 1980 en Asclepias syriaca, describen el desarrollo y maduración de laticíferos, y observaron que el laticífero maduro posee una vacuola central grande con una membrana, la formación de esta vacuola aparentemente resulta de la dilatación y subsecuente alargamiento del retículo endoplásmico y posiblemente en parte por fusión de pequeñas vacuolas, rompimientos celulares y/o autofagia, no se observa digestión extensa o autofagia del citoplasma dentro de las vacuolas, los componentes más prominentemente distribuidos en el citoplasma periférico son: núcleo, mitocondrias, dictiosomas y pequeñas vesículas.

Nessler (1981) realizó estudios en plántulas de Glau-cum flavum y menciona que los laticíferos iniciales aparecen primero en el procambium de la radícula adyacente al floema alrededor de 48-72 hr., después de la germinación. La diferenciación de los laticíferos iniciales fueron caracterizados por la proliferación de numerosas vacuolas desde la dilatación del retículo endoplásmico.

Stoktill y Nessler (1986) trabajando con Nerium oleander, observaron que ciertos estados de desarrollo de los laticíferos están caracterizados por la presencia de citoplasma denso conteniendo numerosas vesículas. Al madurar, los laticíferos tienen una capa delgada de citoplasma periférico y una gran vacuola central con pequeñas vesículas encerradas.

La vacuola central parece ser formada por dilatación del retículo endoplásmico y por autofagia celular, con áreas de citoplasma, incluyendo organelos que son aislados en vesículas subsecuentemente rotas.

Murugan e Inamdar (1987), mencionan que las paredes de los laticíferos multinucleados de Vallaris solanacea, están más engrosadas que otras paredes celulares, y que la condición cenocítica de los laticíferos, es debida a divisiones amitóticas de sus núcleos.

Estudios realizados en Ficus y Taraxacum, mostraron que en el citoplasma de laticíferos en desarrollo, están presentes un retículo endoplásmico relativamente bien desarrollado y muchos ribosomas.

Las mitocondrias son pequeñas y degeneran cuando las partículas comienzan a aparecer. Los dictiosomas se encuentran sólo en las porciones de crecimiento de los laticíferos. En los laticíferos viejos, la desintegración de los organelos como se ha visto en Taraxacum, procede de la siguiente manera: cuerpo de Golgi, ribosomas, mitocondrias, retículo endoplásmico y plastidios.

FUNCION.

La función del látex en las plantas, así como su definición química ha sido motivo de controversia, Haberlandt en 1918 creyó que el látex tenía un valor nutricional en algunas plantas.

Pizón en 1925 lo consideró como una reserva nutritiva, Sperlich en 1939 también lo propuso como material de reserva, Oronoz en 1962, lo considera como producto de reserva por contener agua, sales, azúcares, almidón, grasas y proteínas.

Cronquist (1982), lo considera como producto de excreción, ya que muchos terpenos parecen ser subproductos no funcionales del metabolismo celular, en particular en tejidos jóvenes en crecimiento, y una vez que se han depositado en los laticíferos, no se sabe que sean de nuevo utilizados por la planta.

Strasburger en 1985, menciona que es posible que constituyan una defensa contra herbívoros.

Particularmente el látex podría considerarse como material de reserva ya que este es observado en el embrión, cuando éste utiliza sustancias como reserva para su desarrollo hasta la plántula, etapa en la cuál pierde sus hojas cotiledonarias donde se encuentran los laticíferos, se desconoce que el látex sea utilizado por las plantas como mecanismo de defensa contra herbívoros, aunque no se descarta la posibilidad, ya que de esta forma se aseguraría la descendencia.

JUSTIFICACION DEL TRABAJO

Dentro de la amplia gama de especies que infestan los cultivos de maíz y sorgo, se encuentran 2 especies de hábito trepador, conocidas comúnmente como correhuela (I. purpurea) y meloncillo (Cucumis melo), los cuales son responsables de una serie de daños indirectos que se reflejan en un mayor costo en la producción y menor calidad del producto cosechado. (Castro, 1976).

El hecho de que algunas plantas posean látex, como en el caso de I. purpurea puede representar un factor de defensa para la planta y esto puede tener relación con la preferencia o rechazo de algunos herbívoros de alimentarse o no de esta planta.

Poseer laticíferos podría constituir una adaptación más, como arvense, para Ipomoea purpurea.

Así mismo el estudio de la estructura de los laticíferos nos permite tener un conocimiento más durante el proceso de diferenciación, esto se ve aumentado con la ayuda de la microscopía electrónica de transmisión ya que por este medio se puede observar con mayor detalle la estructura, la utilización de la microscopía electrónica de barrido muestra al laticífero en cuanto a volumen por lo que con estas dos herramientas el estudio es más completo. La aplicación de pruebas histoquímicas da así mismo una idea de la composición química cualitativa en cuanto a la composición que pueda presentar cualquier tipo de látex

Dada la persistencia de esta especie en los bancos de semillas es interesante conocer la ontogenia de su sistema secretor y su posible papel en el rápido establecimiento de la plántula.

También es interesante el trabajar diferentes técnicas para el estudio de este sistema ya que de esta manera se podrá tener un conocimiento más amplio.

Aún quedan incógnitas por despejar las cuáles pueden ser motivo de trabajos posteriores.

TECNICAS PARA EL ESTUDIO DE LATICIFEROS.

De los trabajos realizados, encontramos que son dos las técnicas utilizadas principalmente para el estudio ontogénico de los laticíferos: la inclusión en parafina y la inclusión en resinas. En ambas se han experimentado distintos tipos de tinciones, así como su observación en microscopía de campo claro y fluorescencia, teniendo con las resinas, la ventaja de obtener tanto material para microscopía fotónica como electrónica.

De los primeros registros con respecto a los laticíferos se encuentran los realizados por De Bary en 1884, 1887; cit. por Fahn. Coupin en 1909 utilizó técnicas en fresco, aplicando colorantes a cortes de tallo de Euphorbia splendens.

En 1956 Malloe y Birch-Andersen, cit.; por González en 1969, ensayaron con una gama de resinas que se solidifican a partir de sus líquidos viscosos, según su peso molecular, y a los que es preciso añadir ciertas aminas alifáticas o anhídridos aromáticos para que se sumen a los grupos epóxi de las resinas y, que estas adquieran su forma tridimensional. La resina epóxi utilizada por estos autores la denominaron EPO.

Craig, Frajola y Greider; cit. por González en 1969, introdujeron en el año de 1962 el uso del epón 812 como medio de inclusión miscible en agua, porque juzgaron que era posible la deshidratación de los tejidos en el mismo. El epón 812 es una resina alifática de baja viscosidad de base glicerada, líquida, de color blanco amarillento, es soluble en alcohol y acetona, aunque existe otro tipo de Epón, que tiene la ventaja de ser soluble en agua.

Bruni y Tosi en 1980, dan a conocer un método para la localización de laticíferos embrionarios de Euphorbia marginata, por medio de la microscopía de fluorescencia y convencional utilizando como medio de inclusión el Butil-metil-metacrilato.

Locquin y Langeron en 1985, mencionan 2 métodos para la tinción de látex, una de ellas por congelación, la cuál consiste en congelar la pieza antes de ser separada del tejido con nieve carbónica o anhídrido carbónico líquido, con el fin de evitar las pérdidas del látex. Los métodos de Addicott, consisten en cortar los fragmentos, se fijan, se cortan por congelación, se blanquean, saponifican y tiñen.

Con la microscopía electrónica se ha ampliado el campo de la investigación, así mismo se han hecho trabajos con diferentes medios de inclusión que permiten mantener al tejido en condiciones de ser observado.

Murugan e Inadmar en 1987, utilizaron como medio de inclusión la resina llamada Spurr, en un trabajo realizado sobre laticíferos de Vallaris solanacea.

Alva en 1988, estudio los laticíferos de Ipomoea purpurea, con microscopía de fluorescencia y utilizando como resina al Butil-metil-metacrilato, y como colorantes a la fucsina ácida y el verde de malaquita. La microscopía de fluorescencia se ha usado en numerosos estudios de la estructura vegetal. Este autor concluye que los laticíferos de Ipomoea purpurea son no articulados (unicelulares), esféricos y no anastomosados, los cuales aparecen entre los días 20 y 21 del desarrollo de la semilla, partiendo de la antesis como día cero. Presentándose solamente en los cotiledones del embrión y nunca en el eje embrionario.

LOCALIZACION DE LATICIFEROS EN LAS FAMILIAS DE ANGIOSPERMAS.

Los laticíferos pueden encontrarse en las siguientes familias y géneros: Articulados anastomosados; Compuestas, tribu cocoriáceas (Cichorium, Lactuca, Scorzonera, Sonchus, Taraxacum, Tragopogon), Campanuláceas, incluyendo las lobeloideas, Caricáceas (Carica, papaya), Papaveráceas (Papaver, Argemone), Euforbiáceas (Hevea, Manihot). Articulados no anastomosados: Convolvuláceas (Ipomoea, Convolvulus, Dichondra). Papaveráceas (Chelidonium), Sapotáceas (Achras, sapota), Liliáceas (Allium), Musáceas (Musa). No articulados ramificados: Euforbiáceas (Euphorbia), Asclepidáceas (Asclepias, Cryptostegia). Apocináceas (Nerium, oleander). Moráceas (Ficus, Broussonetia, Machura). No articulados no ramificados: Apocináceas (Vinca), Urticáceas (Urtica), Moráceas (Cannabis), (Esau, 1976).

FAMILIA CONVULVACEAE.

Las convolvuláceas son plantas herbáceas, erectas, o volubles, arbustivas o a veces arbóreas, frecuentemente provistas de látex. Hojas alternas, simples pero con frecuencia lobadas o partidas, en ocasiones reducidas a escamas (Cuscuta). Flores axilares, solitarias o dispuestas en cimas bracteadas. Pedúnculo articulado. Flores hermafroditas, actinomorfas. Cáliz por lo menos de 5 sépalos, a veces unidos en la base, con frecuencia acrescentes en el fruto. Corola simpétala con el limbo entero o (3 a 5 lobado), de prefloración contorta. Estambres 5 insertos en el la corola. Disco presente o ausente, ovario supero, entero o profundamente bilobado (Dichondra), típicamente bicarpelar y bilocular (aunque puede variar entre 1 y 6, carpelos y lóculos) óvulos 2 en cada lóculo, por lo general de placentación axial, estilos 1 o 2, estigma único, capitado, con frecuencia más o menos 2 o 3 (hasta 5)- lobado, bien, con 2 estigmas globosos, elipsoides o lineares. El fruto por lo común es una cápsula loculicida con 2 semillas (a menudo pubescentes) en cada lóculo. La familia Convolvulaceae tiene cerca de 50 géneros, con aproximadamente 2000 sp., trópicos y subtropicales. Ipomoea es el género más abundante con 400 especies aproximadamente, del tipo de las enredaderas. (Rzedowski y Rzedowski, 1985).

DESCRIPCION BOTANICA DE Ipomoea purpurea.Ipomoea purpurea (L.) Roth.

Planta herbácea anual, de 20 a 100 cm., de longitud, rastrera o trepdora. Tallo generalmente ramificado en su base, hirsuto-pubescente, con pelos amarillos hasta 4.0mm. de largo. Pecíolos de 4 a 20 cm. de largo, pubescentes. Láminas de la hoja cordiformes ovados, enteras o trilobadas o bien raramente 5-lobadas, de 3 a 17 cm. de largo y 2 a 15 cm. de ancho. Apice agudo a acuminado. Base cordada de seno profundo, con pubescencia esparcida a densa en ambas caras, misma que disminuye con la edad. Flores solitarias o en cimas 2-5 floras en las axilas de las hojas. Pedúnculos de 0.2 a 18 cm. de longitud. Pedicelos de 5 a 20 mm. de largo, ambos pubescentes a tomentosos. Brácteas lanceoladas, de 1 a 9 mm. de largo pubescentes. Sepálos desiguales, los exteriores lanceolados a angostamente elípticos, de 8 a 17 mm. de longitud y de 2 a 5 mm. de ancho, acuminados, hirsuto pubescentes, principalmente en la base, con pelos largos amarillos de base engrosada, los interiores angostamente lanceolados, de 8 a 17 mm. de longitud y 2 a 3 mm. de ancho, acuminados con bordes escariosos y ligeramente pubescentes en la parte media. Corola infundibuliforme, de color púrpura (el tubo a veces blanco) de 2.5 a 5.0 cm. de longitud, glabra filamentososa, de 13 a 30 mm. de longitud. Anteras de 1.0 a 3.0 mm. de largo ovario cónico, glabro, 3-locular, con 6 óvulos; estilo de 14 a 27 mm. de longitud. Estigma 3 globoso. Cápsula subglobosa, glabra de 9.0 a 11.0 mm. de diámetro, 6 valvar, 3 locular, con 6 semillas de 4.0 a 5.0 mm. de longitud y más o menos 4.0 mm. de ancho. (Rzedowski & Rzedowski, 1985).

REPORTES SOBRE LATICIFEROS EN LA FAMILIA CONVULVULACEAE.

En la familia Convolvuláceae Fahn (1974), cita la presencia de laticíferos articulados no anastomosados en tallos y hojas de Convolvulus, Ipomoea y Dichondra.

Murguía (1986), realizó un estudio comparativo de semillas maduras de 2 especies arbóreas del género Ipomoea ; I. pauciflora e I. murucoides, en ambas encuentra en los cotiledones del embrión células laticíferas.

López (1987), menciona que los cotiledones de I. X leucantha, al igual que los de I. purpurea, son plegados y con abundantes laticíferos.

Márquez (1986), realizó un estudio anatómico e histológico del desarrollo de la semilla de Turbina corymbosa ; planta perteneciente a la familia Convolvulaceae y no reporta laticíferos. Gutiérrez en 1990, trabajó con la semilla de Dichondra sericea , y no reporta laticíferos. Alva en 1988, reporta laticíferos en el embrión de I. purpurea , además realiza una secuencia del desarrollo, y su detección con microscopía de fluorescencia.

APLICACIONES.

Ipomoea purpurea , es una planta que por poseer látex el cual está compuesto por muchas sustancias en solución y suspensión coloidal, ha sido utilizado con gran éxito tanto en la industria como en la medicina. Por ejemplo es usada la planta entera como antiparásitario, y es un compuesto del cual se extrae el caucho y la gutapercha. (Díaz 1976).

MATERIAL Y METODO

Se utilizó un lote de semillas maduras de Ipomoea purpurea, recolectadas de cultivos de maíz, en la localidad de San Pedro Atocpan. Distrito Federal en Octubre de 1986.

Se escarificaron y se pusieron a germinar en cajas de petri con círculos de papel humedecidos con agua.

Una vez germinadas se sembraron 30 plantas en macetas y se dejaron crecer en el invernadero de la Facultad de Ciencias.

Se esperó hasta la floración, anotando los datos sobre la fecha de antesis de cada flor y fecha de corte.

Se siguió el desarrollo de los frutos desde el momento de la floración, (antesis, día cero), hasta fruto maduro hidratado (día 30), se colectó cada estadio con intervalos de 24 hr. de diferencia.

Se recolectaron por lo menos 5 muestras de cada estadio. Las muestras se procesaron para su observación en :

- A) Microscopía Fotónica
- B) Microscopía Electrónica de Transmisión
- C) Microscopía Electrónica de Barrido.

Microscopía Electrónica de Transmisión.

El material colectado, fué fijado a 4° C durante 48 hr. en una mezcla de glutaraldehído 3.0 %- paraformaldehído 1.5% y sacarosa 0.06M. en buffer de s-Collidina, ph 7.2 a 0.05M. (Mollenhauer y Totten 1971). Posteriormente se lavó en buffer de s-Collidina, ph 7.2 a 0.05M. durante 72hr. para quitar el exceso de fijador.

Las muestras fueron postfijadas posteriormente a 4°C durante 3.0 hr. en OsO₄ al 1% en buffer de s-Collidina 0.05M.

Las muestras se lavaron con buffer de s-Collidina sin sacarosa durante 3.0 hr. se procedió a hacer la deshidratación en acetonas graduales al 30%, 50%, 70%, 80%, 96% , 100% y 100% , cada uno en un tiempo de 30 min.

Posteriormente fueron embebidas en una resina alifática: Epón 812 de la siguiente manera:

a) Acetona-Epón (1:1) con catalizador, durante 24 hr.

b) Acetona-Epón (2:1) con catalizador, durante 24 hr.

c) Epón con catalizador , durante 24 hr.

d) Epón con catalizador, polimerización a 60° C durante 48 hr.

Para realizar las observaciones en microscopía de luz se obtuvieron cortes de (2-6 micra) de grosor, los cuáles fueron teñidos con azul de toluidina y montados en portaobjetos .

Para Microscopía Electrónica de Transmisión, se obtuvieron cortes finos de (700-1400 A) de grosor, y montados en rejillas, fueron contrastados con acétato de Uranilo y plomo y observados en el Microscopio Electrónico E:M:9 ZEISS.

Microscopía Electrónica de Barrido.

A semillas maduras rehidratadas se les aplicó el proceso de fijación , lavado y postfijación como en el caso anterior, la deshidratación se llevó a cabo con una serie de alcoholes graduales: 30%, 50%, 70%, 80%, 96%, y 100%, con un tiempo de 30min., cada uno, y después en acetona al 100% durante 30 min.

Fueron colocadas en un portamuestras en una recubridora ionizadora JEOL, J.F.C. 1100, la exposición aplicada fué de 5 a 7 min.

Las observaciones fueron efectuadas en el Microscopio Electrónico de Barrido, JEOL-35 SCANNING.

C). Pruebas Histoquímicas.

Se tomarón fracciones de semillas maduras rehidratadas y se aplicaron las siguientes pruebas histoquímicas:

1) Acido Peryódico-Reactivo de Schiff (APS)

Tiñe a los polisacáridos insolubles de color rosa intenso (Engleman, E.M. comunicación personal).

2) Rojo O de Aceite.

Tiñe de rojo claro las reservas lípidicas (Engleman, E.M. comunicación personal).

3) Azul Mercúrico de Bromofenol.

Tiñe de color azul las reservas proteicas.

4) Reactivo de Lugol.

Tiñe de azul y morado intenso al almidón (Johansen, 1940).

5) Permanganato de Potasio.

Tiñe de color café oscuro a los taninos, carbohidratos y otros compuestos susceptibles a la oxidación (Engleman, E.M. comunicación personal).

Estas pruebas se llevaron a cabo aplicando calor y realizando un "aplastado" a los cotiledones.

RESULTADOS

El ciclo de vida de Ipomoea purpurea, se desarrolló durante el período comprendido en los meses de marzo a octubre de 1989, en el invernadero de la Facultad de Ciencias.

Desde la germinación de la semilla hasta el establecimiento de la plántula pasaron 8 días en promedio, y de la plántula al inicio de la floración 4 meses aproximadamente.

El tiempo de desarrollo de la planta desde la floración (antesis) hasta la producción de frutos maduros fué de 30 días en promedio, el criterio utilizado para determinar la madurez de la semilla, fué cuando el fruto presentó los primeros signos de deshidratación, haciéndose evidente por el cambio de coloración en el pericarpio, el cual se tornó de verde claro a café.

Se procesaron un total de 150 muestras, de las cuales fueron tomadas 5 por cada etapa de desarrollo de la semilla de Ipomoea purpurea, tomando a la antesis (día cero), hasta la etapa de fruto maduro hidratado (día 30), el intervalo de tiempo comprendió desde el 09 de agosto al 20 de septiembre de 1989.

La inclusión del material para su observación en microscopía fotónica se realizó en epón.

ONTOGENIA

El embrión torpedo aparece hacia el día 14 a partir de la antesis de desarrollo, durante esta etapa se observa una masa celular homogénea, parenquimática, no aparecen células que pudiesen dar lugar a los laticíferos (fig. 1).

Es a partir del día 18 cuando comienzan a diferenciarse algunas células en laticíferos (fig. 2), las cuales pueden encontrarse distribuidas aleatoriamente en los cotiledones y no aparecen en el eje embrionario. Pueden encontrarse diferentes grados de diferenciación en una misma etapa de desarrollo de la semilla, desde jóvenes (fig. 3), intermedios y maduros.

El tamaño que pueden llegar a alcanzar los laticíferos es variable, oscila entre 27 micras al inicio del desarrollo y llegar a alcanzar 120 micras de diámetro en etapa madura, el núcleo de los laticíferos es de 6 micras aproximadamente y es en comparación con el de las células parenquimáticas de mayor tamaño, ya que en éstas es de aproximadamente 2 micras de diámetro. El embrión maduro consta de un eje embrionario bien desarrollado y dos cotiledones.

ESTRUCTURA CELULAR.

Las células laticíferas aparecen hacia el día 18 del desarrollo, a medida que van madurando, se presentan cambios morfológicos, uno muy evidente es la hipertrofia nuclear, ya que el tamaño que el núcleo llega a alcanzar es de 6 micras de diámetro en comparación con el núcleo de las células vecinas el cual es de 2 micras (fig. 4).

La diferenciación inicial de los laticíferos se caracteriza por la presencia de un citoplasma denso conteniendo numerosas vesículas (fig. 5), que posiblemente se fusionan a medida que va creciendo el laticífero hasta llegar a formar una sola (fig. 6). Esta vacuola va creciendo, aumentando su volumen y desplazándose hacia el centro provocando que el núcleo se mueva hacia la periferia (fig. 7 y 8).

A medida que el laticífero va aumentando su tamaño, las células vecinas que lo rodean sufren un aplastamiento producto de la presión ejercida por el laticífero al expandirse gradualmente (fig. 9).

Al madurar, los laticíferos tienen una capa delgada con residuos de material citoplasmático periférico así como una gran vacuola central (fig. 10). Al parecer existen algunas vesículas pequeñas contenidas en la gran vacuola central. El núcleo parece desintegrarse en la periferia celular, así como las mitocondrias y el aparato de Golgi (fig. 11). Cuando la vacuola ocupa todo el espacio celular, el laticífero ha alcanzado su madurez, que corresponde al término de crecimiento de los cotiledones (fig. 12).

No existen evidencias de comunicación de los laticíferos con el sistema vascular. Se observaron cristales en forma de estrella "drusas", los cuales posiblemente estén constituidos por oxalato de calcio y se encuentran solo en algunas etapas de desarrollo, entre los estadios 21 y 22, y al igual que los laticíferos aparecen únicamente en los cotiledones, no así en el eje embrionario.

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION.

Las fotomicrografías electrónicas muestran a las células laticíferas con un crecimiento de la vacuola central que desplaza al citoplasma y núcleo a la periferia de la célula (figs. 13 y 14).

El laticífero presenta una pared primaria continua muy delgada, se observa claramente a la lámina media (fig.14).

El citoplasma periférico contiene numerosas mitocondrias, dictiosomas ribosomas libres y restos de organelos encerrados en membranas.

El núcleo muestra un nucleolo prominente y una envoltura nuclear bien delimitada.

En las últimas etapas del desarrollo de las células laticíferas, el núcleo degenera quedando una pequeña banda citoplasmática con muchas vacuolas al parecer autofágicas (fig.15).

En un laticífero maduro la vacuola ha ocupado todo el espacio quedando restos de un citoplasma completamente degradado (fig.16).

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO.

Por medio de la microscopía electrónica de barrido se muestra el laticífero en volúmen y su localización en el cotiledón de la semilla de Ipomoea purpurea (fig. 19), se observa una protuberancia producida por la presión del contenido del laticífero.

HISTOQUIMICA.

Los cortes de las muestras fueron teñidos con azul de toluidina, el cuál tiñe a las células parenquimáticas de color azul claro, y a los laticíferos, especialmente las paredes y el núcleo, de color azul intenso. Para la aplicación de las pruebas histoquímicas fué necesario hacer un "aplastado" a los cotiledones.

El aplastado provoca que el contenido de los laticíferos rodeado por una membrana salga y se proyecte fuera de los cotiledones como una pequeña esfera cuya integridad celular dura unos cuantos minutos antes de estallar (figs. 17 y 18).

Las pruebas histoquímicas se realizaron sobre estas esféras obteniéndose los siguientes resultados:

1) Acido Peryódico-Reactivo de Schiff (APS)
Da reacción positiva, tiñendo los polisacáridos insolubles de color rosa intenso.

2) Rojo "O" de Aceite.
Da reacción positiva, tiñendo de rojo claro las reservas lipídicas.

Con el : Azul Mercúrico de Bromofenol, el
Reactivo de Lugol y el
Permanganato de Potasio los resultados para
proteínas, almidones y taninos respectivamente fueron negativos.

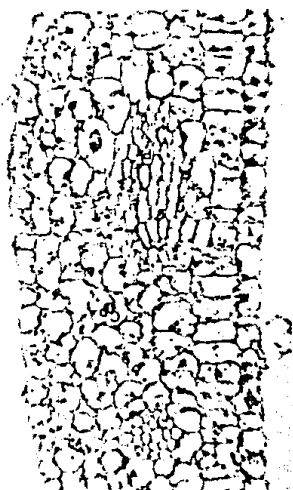
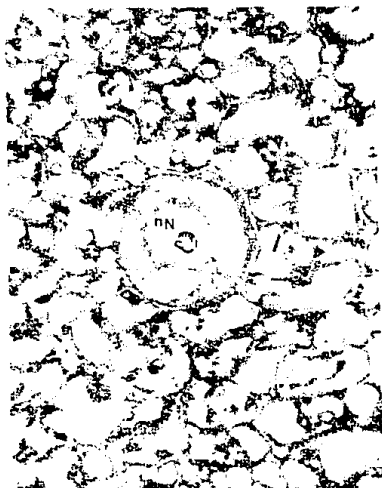
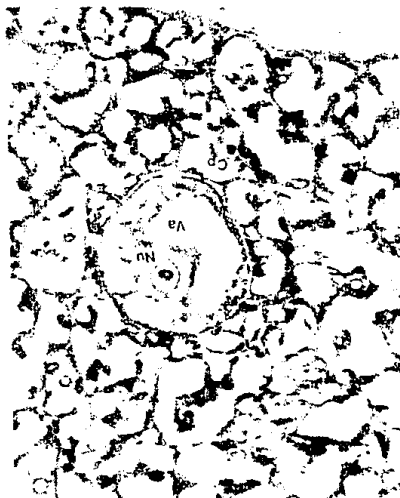
LAMINA # 1.

Fig. 1.- Corte longitudinal de cotiledón, día 17 de desarrollo de la semilla. Observándose el tejido cotiledonario homogéneo. Tejido provascular (Pr), células parenquimáticas (Cp), 100 aumentos.

Fig. 2.- Tejido cotiledonario, día 20 de desarrollo de la semilla. Se observa una célula laticífera, en las primeras etapas de desarrollo, Pared celular (Pc), Núcleo (Nu), Citoplasma (Ci), Vacuolas (Va), 256 aumentos.

Fig. 3.- Tejido cotiledonario día 21 de desarrollo de la semilla en la que se observa una célula laticífera joven, Núcleo (Nu), Nucleolo (Nc) y vacuolas (Va), Citoplasma (Ci). 256 aumentos.

Fig. 4.- Día 21 de desarrollo de la semilla, en la cuál se observa una célula laticífera de 27 micras de diámetro, se nota el gran volumen de esta en relación con el volumen de las células parenquimáticas (Cp), Núcleo (Nu), Nucleolo (Nc) y Pared celular (Pc), así como las dimensiones que va adquiriendo la vacuola (Va), 256 aumentos

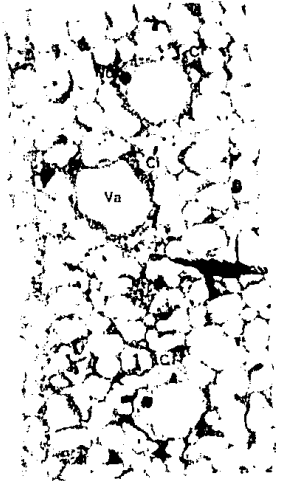


LAMINA # 2.

Fig. 5.- Fotomicrografía que muestra a la célula laticífera (Cl) joven, en posición apical, día 19 de desarrollo de la semilla, con vacuolas (Va), Pared celular (Pc), Núcleo, Nucleolo, 160 aumentos.

Fig. 6.- Tejido Cotiledonario, día 21 de desarrollo de la semilla, mostrando una célula laticífera intermedia (Cl), con una gran vacuola (Va), Núcleo (Nu), Nucleolo (Nc), Pared celular (Pc), 256 aumentos.

Fig. 7 y 8.- Células laticíferas (Cl) en tejido cotiledonario, día 22 de desarrollo, se nota la disminución del citoplasma (Ci), por el volumen que alcanza la vacuola (Va), así como la posición periférica del núcleo (Nu), y Nucleolo (Nc), 160 aumentos.



LAMINA # 3.

Fig. 9.- Célula laticífera, día 25 de desarrollo de la semilla, en la que se observan restos de material citoplasmático (Ci), el Núcleo (Nu) y el Nucleolo (Nc), han sido desplazados por la presión ejercida por la vacuola (Va), la cuál ha alcanzado un gran volúmen, 160 aumentos.

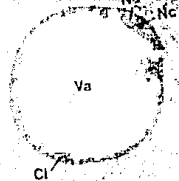
Fig. 10.- Corte longitudinal de cotiledón, célula laticífera (Cl), día 27 de desarrollo, el material citoplasmático (Ci) se ha reducido notoriamente, el Núcleo (Nu) y Nucleolo (Nc) han quedado totalmente relegados a la periféria, la vacuola (Va) ha ocupado casi todo el volúmen celular, 100 aumentos.

Fig. 11.- Célula laticífera día 27 de desarrollo en la que se observa que la vacuola (Va) ha ocupado casi toda el área celular, así como restos de material citoplasmático (Ci), 160 aumentos.

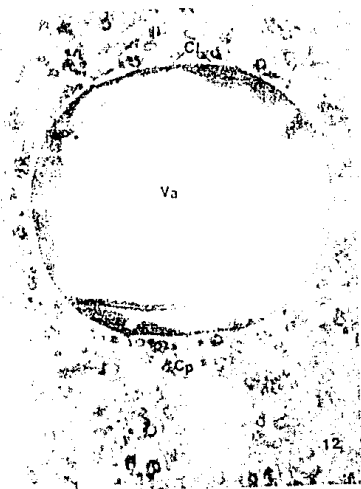
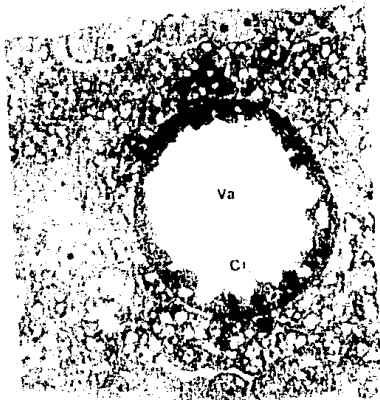
Fig. 12.- Célula laticífera madura (Cl), día 30 de desarrollo de la semilla observese el volúmen que ha alcanzado ésta con respecto a las células vecinas parenquimáticas (Cp), así como el espacio que ocupa la vacuola central (Va), son evidentes también restos de citoplasma (Ci), en esta etapa ya no se observa núcleo ni nucleolo, 160 aumentos.



9



10



12

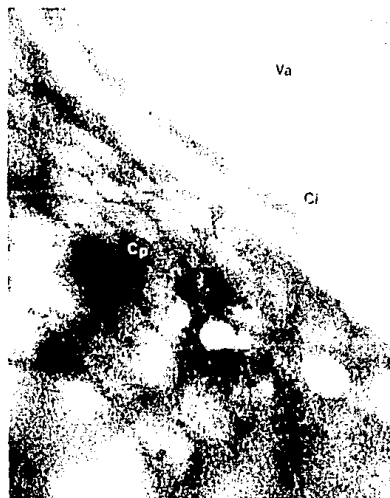
LAMINA # 4.

Fig. 13.- Fotomicrografía electrónica que muestra una gran Vacuola central (Va) y el citoplasma periférico (Ci) conteniendo al Núcleo (Nu), con un Nucleolo (Nc), Pared celular (Pc), día 21 de desarrollo de la semilla, 2,500 aumentos.

Fig. 14.- Fotomicrografía electrónica en la que se observan restos de material citoplasmático periférico (Ci), una vacuola central de gran tamaño (Va), Núcleo (Nu) y Nucleolo (Nc), se evidencia claramente la pared celular (Pc), y Dictiosomas (Dc) Lámina media (Lm), 2,500 aumentos.

Fig. 15.- Fotomicrografía electrónica de la célula laticífera (Cl), día 28 de desarrollo en la que se observa material citoplasmático (Ci) en la perifería, así como la Pared celular (Pc). 4,420 aumentos.

Fig. 16.- Fotomicrografía electrónica, día 30 de desarrollo de la semilla, mostrando una vacuola (Va) la cuál ha ocupado totalmente el área celular, existen restos de material citoplasmático (Ci), es evidente así mismo la Pared celular (Pc), y la Célula parenquimática vecina (Cp), 8,800 aumentos.



LAMINA # 5.

Fig. 17.- Fotomicrografía fotónica que muestra a la esfera laticífera (Cl), producto del aplastamiento de los cotiledones. Prueba positiva con Acido Peryódico-Reactivo de Schiff, semilla madura rehidratada, 40 aumentos.

Fig. 18.- Fotomicrografía fotónica mostrando la esfera laticífera (Cl) obtenida del aplastamiento de los cotiledones (Co), prueba histoquímica positiva con Rojo "O" de aceite, semilla madura rehidratada, 40 aumentos.

Fig. 19.- Fotomicrografía electrónica de barrido en la cuál aparece la superficie de un cotiledón de la semilla madura rehidratada, donde se observa el volúmen que ocupa una célula laticífera bajo las células epidérmicas (Ce), 24 aumentos.



DISCUSION

La mayoría de los trabajos realizados sobre laticíferos han sido enfocados hacia el estudio de la raíz, tallo y hojas de las plantas. Los trabajos sobre semillas son muy pocos.

En cuanto a las familias más estudiadas se encuentran aquellas que tienen un valor comercial por su importancia en la industria, como es el caso de Euphorbia y Ficus, entre otras. Para la familia Convolvulaceae, los trabajos son muy pocos y los que se han realizado se enfocan a la parte vegetativa de las plantas no así para la semilla.

En un trabajo realizado por Mahlberg (1961) encontró en Nerium que el número inicial de laticíferos es constante y que pueden ser distinguidos en el embrión donde se presentan en el nodo cotiledonario, en el caso de I. purpurea no se observa una regionalización clara. Su ubicación es sobre todo en los extremos apicales de los cotiledones. Los laticíferos son unicelulares, muestran una ubicación aleatoria y su número puede ser variable.

En cuanto a origen en 1968 Mahlberg y Sabharwal en un estudio realizado en el embrión de Euphorbia marginata encuentran que los laticíferos surgen en el nodo cotiledonario en la etapa temprana de corazón, en I. purpurea los laticíferos aparecen distribuidos aleatoriamente en los cotiledones, ya cuando el embrión está totalmente formado, no se evidencia alguna diferenciación a partir del nodo cotiledonario, y aunque los laticíferos de los dos casos anteriormente citados son no articulados pueden tener diferencias en cuanto a su surgimiento.

Fahn (1974) menciona la presencia de laticíferos articulados no anastomosados para los géneros Ipomoea, Convolvulus, Dichondra de la familia Convolvulaceae, y Cronquist (1981) incluye la presencia del látex como un carácter diagnóstico de la familia, pero no menciona si el látex se encuentra en las semillas o en la planta adulta.

Entre los pocos trabajos realizados en semilla se encuentran los de Márquez-Guzmán (1987) en Turbina corymbosa y Gutiérrez (1989) en Dichondra sericea, y no mencionan la presencia de laticíferos en la semilla de estas plantas.

Sin embargo, existen trabajos realizados en semillas del género Ipomoea: I. X leucantha (López, 1987), I. crinicalix (Ponce, 1986), I. purpurea (Alva, 1988) en los cuáles reportan la presencia de laticíferos en la semilla, mientras que en géneros como Dichondra (Gutiérrez, 1990), Turbina (Márquez, 1986), no se han reportado por lo que es posible suponer que este sea un carácter diagnóstico para las semillas del género Ipomoea, no así para todas las semillas de la familia Convolvulaceae.

Existen algunos trabajos sobre el sistema laticífero de embriones como el realizado por Milanez (1956) en Euphorbia pulcherrima, en el cuál menciona que la formación del sistema laticífero es a nivel del plano nodal, en la intersección de los cotiledones y a las cuáles las denomina "FOCOS".

En Ipomoea purpurea, la formación del sistema laticífero no se presenta como ramificación, se presentan como células con un volumen mayor que las parenquimáticas, y con núcleos más grandes que los núcleos de las células parenquimáticas y apareciendo asincrónicamente a lo largo y ancho de los cotiledones, son unicelulares y esféricos.

En cuanto al término "FOCOS" no es usado en el presente trabajo, el criterio utilizado es únicamente para identificar etapas y los términos usados son laticíferos jóvenes, intermedios y maduros, los jóvenes son los primeros en aparecer, comprenden las etapas (18, 19, 20), los intermedios (21 al 25) y maduro (26 al 30).

Mahlberg y Sabharwal en 1968, en un trabajo sobre Euphorbia marginata, menciona también que los laticíferos surgen en el nodo cotiledonario del embrión joven durante la etapa de corazón. En Ipomoea purpurea, los laticíferos aparecen en la etapa de embrión denominada torpedo. El tipo de laticíferos en los dos casos son no articulados.

En general se puede decir que la diferenciación de los laticíferos es a partir de células meristemáticas, como lo menciona Esau (1975), Strasburger (1985).

ULTRAESTRUCTURA.

Los trabajos realizados sobre ultraestructura por Nessler y Mahlberg, se enfocan en especial a las perforaciones de la pared del laticífero de Papaver somniferum, y mencionan que la pared es delgada y degradada por enzimas y que estas perforaciones aparecen uniformemente sobre paredes transversales durante la articulación, a lo largo de las paredes transversales durante la anastomosis. En Ipomoea, el tipo de laticífero es de tipo no articulado no anastomosado, por lo que en la pared no existen perforaciones, es continua, también pueden observarse, una lámina media con algunos plasmodesmos, las mitocondrias aparecen en pequeñas cantidades aunque no llegan a apreciarse claramente las cisternas.

En cuanto a la técnica utilizada, Alva en 1988 utiliza la resina: Butil-metil-metacrilatos, en el presente trabajo se utilizó al Epón obteniéndose con esta resina una mejor resolución de las estructuras pues presenta las siguientes ventajas:

A) La polimerización se realiza uniformemente, endureciéndose el taco de inclusión sin tensiones internas ni retracciones.

B) La resistencia de los cortes es mucho mayor que la del metacrilato.

C) Los cortes, aunque muy finos, es posible montarlos sobre rejillas sin membranas, porque resisten mucho el bombardeo del haz de electrones, (González, 1969).

Así mismo se hace uso de la microscopía electrónica de barrido como un medio más para ampliar el aspecto estructural de los laticíferos en cuanto a la evidencia global que presenta en el cotiledón en volúmen.

HISTOQUIMICA.

El látex de algunas plantas contiene aceites, proteínas, resinas, azúcares, gomas, etc. (Ornoz 1962, Fahn 1974), y varias formas de granos de almidón así como taninos y a veces alcaloides. En Ipomoea, al aplicar las pruebas histoquímicas sobre el látex se encontró presencia únicamente de polisacáridos insolubles así como lípidos. Se aplicaron pruebas para proteínas almidones y taninos las cuales resultaron negativas, esto indica que en el interior de las vesículas no hay proteínas, almidones y taninos o por lo menos no existen en cantidades suficientes para que puedan ser detectadas por estas pruebas.

Inadmar y Murugan (1987), mencionan la existencia de proteínas y lípidos y la ausencia de granos de almidón en laticíferos no articulados ramificados de Vallaris solanacea, de ápices de brotes.

Es claro que la presencia de algunas sustancias en el látex de las plantas de diferentes familias varían en su composición, o hay diferentes tipos de látex en las diferentes familias.

El ciclo de vida de Ipomoea purpurea, en condiciones de invernadero es más largo en que en el campo. Alva en 1988, registra en un trabajo sobre la ontogenia de laticíferos en semillas de esta misma planta, que el ciclo de vida se llevó a cabo en los meses, de marzo a junio de 1987, en el campo.

En el invernadero el ciclo se desarrolló de los meses de marzo a septiembre. Esto podría ser un factor que explique el tiempo de aparición de los laticíferos, ya que el mismo Alva registra que estos aparecen hacia el día 21 de desarrollo, y en el presente trabajo los laticíferos aparecen hacia el día 18 de desarrollo.

De acuerdo a la clasificación de De Bary (1877), se pueden clasificar a los laticíferos de la semilla de Ipomoea purpurea como no articulados, no anastomosados, ya que son unicelulares, no hay ramificaciones y tampoco se observa que tengan comunicaciones con otras células laticíferas. Asimismo se observó una hipertrofia nuclear en los laticíferos jóvenes de esta planta, esto concuerda con lo reportado por Alva (1988), así como también la presencia de laticíferos en los cotiledones, no así en el eje embrionario.

Los estudios realizados sobre la planta de Ipomoea purpurea son muy importantes ya que esta planta esta considerada dentro de las 10 especies de maleza de mayor importancia económica en el cultivo de maíz de las zonas Noroeste, Sureste y

Nortecentro de Estados Unidos, así como en las regiones templadas de México. (Castro, 1976).

Los laticíferos podrían constituir una de las mejores defensas de las semillas y de las plántulas contra sus depredadores y convertirse así en una más de sus adaptaciones como maleza. Ya que se han hecho algunas observaciones en campo en las que se nota que que las plántulas no son comidas por herbívoros. En etapa adulta tampoco por lo que este factor les permite vivir y asegurar su descendencia.

Aún quedan muchas incógnitas por resolverse sobre los laticíferos en Ipomoea purpurea. Una de ellas corresponde a la naturaleza química del látex.

CONCLUSIONES

- 1) La planta de Ipomoea purpurea presenta un retraso en la floración de aproximadamente 30 días en condiciones de invernadero con respecto a las plantas colocadas a la intemperie.
- 2) Los laticíferos de la semilla de Ipomoea purpurea en condiciones de invernadero aparecen el día 18 del desarrollo, partiendo de la antesís como día cero.
- 3) El diámetro aproximado del laticífero es de 27 micras en etapas jóvenes a 120 micras en etapas maduras, en comparación con las células vecinas cuyo diámetro es de 6 a 9 micras en promedio.
- 4) El núcleo de los laticíferos alcanza un diámetro de 4 a 6 micras en promedio, en comparación con el núcleo de las células parenquimáticas vecinas el cuál es de 2 micras en promedio.
- 5) La microscopía electrónica muestra la presencia de mitocondrias, aparato de Golgi, plasmodesmos, membrana y pared celular en laticíferos de semillas en Ipomoea purpurea.
- 6) Los laticíferos de la semilla de Ipomoea purpurea son unicelulares, no articulados, esféricos y no anastomosados.

- 7) Los laticíferos aparecen en los cotiledones, no en el eje embrionario.

- 8) Las pruebas histoquímicas en semilla madura rehidratada muestran la presencia de polisacáridos insolubles y lípidos en el contenido de los laticíferos.

BIBLIOGRAFIA.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- Alva, G.R. 1988. Ontogenia de laticíferos en Ipomoea purpurea (L.) Roth (Convolvulaceae), y su detección con microscopía de fluorescencia. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. UNAM, México. 54pp.
- Bruni, A., Vannini, G.L. and M.P. Fasulo. 1978. Anatomy of the latex system in the dormant embryo of Euphorbia marginata Pursh: Correlative Analysis of the histological organization and Topographic distribution of laticifers. Annals of Botany 42:1099-1108.
- Castro, M.E. 1976. Distribución, Biología y combate de Correhuela (Ipomoea purpurea L. Roth) y meloncillo (Cucumis melo L. Aff. Agrestis Naudin), en los cultivos de maíz y sorgo de la región Norte de Tamaulipas. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". México 78pp.
- Coupin, H. 1909. Technique microscopique. Octave Doin et fils, Editeurs. Paris. 260pp.
- Cronquist, A. 1969. Introducción a la Botánica. 1a. Edición. Edit. Continental S.A. México. 800pp.
- Curtis, P.J. 1986. Microtecnia Vegetal. 1a. Edición. Trillas, S.A. de C.V. México. 106pp.
- Dahlgreen, R.M. y Clifford, H.T. 1982. The Monocotyledons: A Comparative study. Academic Press, London. L.T.D. pag. 85.

- Díaz, J. 1976. Usos de las Plantas Medicinales de México. Monografías Científicas. IMEPLAN.
- Esau, K. 1976. Anatomía Vegetal. 3a. Edición. Omega, S.A. Barcelona, España. 779pp.
- Fahn, A. 1979. Secretory Tissues in Plants. Academic Press. New York. 277pp.
- González, S.R. 1969. Técnicas de Microscopía Electrónica en Biología. Edic. Aguilar, S.A. Madrid, España.
- Gutiérrez, A.M. 1990. Anatomía e Histoquímica del Desarrollo de la semilla de Dichondra sericea. Sw. (Convolvulaceae). Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 82pp.
- Islas, H.J. 1984. Variación Estacional del Contenido de semillas en el suelo en 3 habitats, de la comunidad de Senecio praecoxs, (Pedregal de San Angel, Méx. D.F.). Tesis de Licenciatura, Fac. de Ciencias. UNAM. 100pp.
- Jensen, A.W. 1962. Botanical Histochemistry. W.H. Freeman and Company. Sn. Francisco and London. 408pp.
- Johansen, A.D. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill. USA. 523pp.
- Locquin, M. y Langeron, M. 1985. Manual de Microscopía. 1a. Edic. Edit. Labor, S.A. Barcelona España. 373pp.

- López, C.M.L. 1987. Estudio del ciclo de vida y del desarrollo de la semilla de Ipomoea X leucantha (Convolvulaceae), contaminante del arroz comercial. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 63pp.
- Mahlberg, P. y Sabharwal, P. 1967. Mitotic waves in Laticifers of Euphorbia marginata. Science, 152: 519-519.
- Mahlberg, P.G. y Sabharwal, P.S. 1968. Origin and early development of nonarticulated laticifers in embryos of Euphorbia marginata. Amer. J. Bot. 55 (3): 375-381.
- Márquez-Guzmán, J. 1987. Anatomía e Histoquímica del Desarrollo de la semilla de Turbina corimbosa (L.) Raf. (Convolvulaceae). Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. UNAM.
- Milanez, F.R. y Machado, R.D. 1956. Aplicacao da Microscopia electronica so estudo dos laticiferos embriarios de Euphorbia pulcherrima. Ibid 18-19 425-430, Rodriguesia 18-19:425-430.
- Milanez, F.R. & Neto, M.H. 1956. Origem dos laticiferos do Embriao de Euphorbia pulcherrima Willd. Ibid 18/9 352-395. Rodriguesia 18-19:352-395.
- Murugan, V. e Inadmar, A.J. 1987. Studies in laticifers of Vallisneria spiralis (L.) Roth. Phytomorphology, 37 (2,3): 209-214.

- Nessler, C.L. y Mahlberg, P.G. 1977. Cell wall perforation in laticifers of Papaver somniferum L. Bot. Gaz. 138 (4):402-408.
- Nessler, C.L. y Mahlberg, P.G. 1977. Ontogeny and Cytochemistry of alkaloidal vesicles in laticifers of Papaver somniferum L. (Papaveraceae). Amer. J. Bot. 64 (5):541-551.
- Nessler, C.L. y Mahlberg, P.G. 1978. Laticifer Ultrastructure and differentiation in seedlings of Papaver bractetum Linl. Population Arya 11 (Papavera-
ceae). Amer. J. Bot. 65 (9): 978-983.
- Nessler, C.L. 1982. Ultrastructure of Laticifers in seedlings of Glaucium flavum (Papaveráceae). Can. J. Bot. 60:561-567.
- Nunn, E.R. 1976. Microscopía Electrónica: Microtomía, tinción y técnicas especializadas. Edit. El Manual Moderno. S.A. México. 78pp.
- Pizón, A. 1925. Anatomie et Physiologie végétales. Sixième édition. Librairie Octave Doin, éditeur. Prís. 567pp.
- Rosowski, R.J. 1968. Laticifer morphology in the mature stem and leaf of euphorbia supina . Bot. Gaz. 129 (2): 113-120.
- Roth, I. 1964. Microtecnica Vegetal, Escuela de Biología, . Fac. de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas. 88pp.

- Ruiz, O. M. 1962. Tratado Elemental de Botánica. Editorial Científica Latinoamericana Larios. Méx. pag. 119, 380.
- Rzedowski y Rzedowski. 1985. Flora Fanerógamica del Valle de México, 1a. Edición. Instituto de Ecología. D.F. México. 674pp.
- Sacristán, M. 1966. Histoquímica Práctica. 1a. Edición. Acriba España. 195pp.
- Stockstill, L.B. & Nessler, L.C. 1986. Ultrastructural observations on the nonarticulated branched laticifers in Nerium oleander L. (Apocinaceae). Phytomorphology 36(3,4):347-355.
- Strasburger, E. & Noll, F. 1985. Botánica. 7a. Edición. Barcelona, España, pag: 136-137.
- Vázquez, S.S. 1989. Estudio Estructural e Histoquímico del desarrollo de óvulo y antera de Cuscuta tinctoria Martius (Cuscutaceae). Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 47pp.
- Wilson, K.J. y Mahlberg, P.G. 1980. Ultrastructure of developing and mature nonarticulated laticifers in the milkweed Asclepias syriaca L. (Asclepiadaceae). Amer. J. Bot. 57 (8):1160-1170.