

2 ej. 166



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**ALGUNOS ASPECTOS ULTRAESTRUCTURALES EN EL
DESARROLLO DEL ENDOSPERMO DE LA SEMILLA DE
Turbina corimbosa (L.) Raf. 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

MIGUEL ANGEL ORTIZ RUIZ

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
Introducción	2
<i>Generalidades</i>	2
<i>Antecedentes</i>	3
<i>Objetivo</i>	5
Material y Método	6
Resultados	8
<i>Estadio A</i>	8
<i>Estadio B</i>	9
<i>Estadio C</i>	10
Discusión	24
Conclusiones	26
Referencias	28

Resumen

Semillas de *Turbina corymbosa* en distintas etapas de desarrollo fueron obtenidas de una planta cultivada y procesadas para su observación con microscopía óptica y electrónica. El examen de los cortes muestra que el desarrollo del endospermo es de tipo nuclear y que la organización celular se alcanza mediante un patrón que sigue un movimiento centripeto. A nivel ultraestructural, las células del endospermo muestran una gran actividad de síntesis durante todos los estadios aquí registrados. Algunas evidencias apuntan a suponer que la formación de los cuerpos proteicos puede estar ligada a organelos membranosos como: el retículo endoplásmico y los dictiosomas. También se observa que cuerpos de contenido homogéneo —probablemente esferosomas— aparecen en la vecindad del retículo endoplásmico. Finalmente se propone un modelo para el inicio de la formación de cuerpos proteicos mediado por vesículas de transporte interno, denominados cuerpos electrodensos.

Introducción

Generalidades

La importancia de las semillas en la vida del hombre ha sido y será fundamental. Desde hace miles de años, el hombre ha utilizado las semillas como alimento; sin embargo, el uso más importante que hizo de ellas cristalizó en el establecimiento de cultivos. Resulta imposible imaginar el cambio de vida en el hombre de nómada a sedentario sin el desarrollo de la agricultura, y fácil de entender, que las plantas y sus productos, las semillas, sean parte de la cultura de muchos pueblos (1). Un caso particular lo tenemos con la especie *Turbina corymbosa* (L.) Raf., de la familia de las Convolvuláceas llamada comúnmente Ololiuhqui. Esta especie fue empleada por los antiguos mexicanos con fines religiosos, mágicos y medicinales. En el presente, el uso principal de la semilla de *T. corymbosa* se restringe a rituales de carácter adivinatorio practicados por distintas étnias del estado de Oaxaca (2).

En la actualidad las semillas son el principal alimento de la humanidad. Además, las semillas se usan en la elaboración de importantes productos industriales, productos farmacéuticos, cosméticos y bebidas alcohólicas. Las semillas, sobre todo aquéllas útiles al hombre han sido y son objeto de numerosas investigaciones. En este tipo de semillas se han adquirido ciertos conocimientos acerca de su composición, estructura y función, aunque todavía falta mucho por aprender sobre los procesos que se llevan a cabo en su interior (3,4).

Las semillas, en términos generales, están dotadas de cubiertas protectoras, sustancias de reserva y de un esporofito en estado embrionario. Así, las semillas son estructuras altamente organizadas que protegen, sostienen y renuevan la vida embrionaria cuando las condiciones ambientales son adecuadas. Asimismo, son el recurso con que cuentan las plantas para propagarse de un lugar a otro mediante la acción del viento, el agua, los animales y el hombre (4).

Las plantas productoras de semillas pertenecen a las divisiones: Cicadofitas, Gingofitas y Coniferofitas, todas Gimnospermas y a las Antofitas, o Angiospermas (5).

La diferencia fundamental entre las Angiospermas y las Gimnospermas, radica en la forma en que producen sus semillas. Las semillas de las Angiospermas son el resultado de la doble fecundación intra-ovárica, mientras que en las Gimnospermas las semillas son el producto de una sola fecundación y no existe ovario (6).

En las Angiospermas después de la polinización, el gametofito masculino -grano de polen- germina sobre la superficie del estigma mediante un proceso tubular que emerge del grano de polen, el cual crece a través del interior del estigma y del estilo hacia el ovario. Una vez que el tubo polínico alcanza el ovario, continúa su crecimiento hasta que se pone en contacto con el óvulo. El extremo del tubo polínico entra por el micrópilo, atraviesa las paredes del gametofito femenino y poco después descarga las células espermáticas en el saco embrionario. Una de las células espermáticas alcanza la ovocélula, se une con ella, fusionan sus núcleos y se forma un cigoto diploide (2n); mientras tanto otra célula espermática se une con la

célula central y los núcleos se fusionan para formar una célula triploide (3n). En la mayoría de los casos el cigoto permanece indivisible durante un lapso después de la fecundación, mientras que la célula triploide o núcleo primario del endospermo, pronto entra en un período de rápida división y forma el tejido endospermico. Algún tiempo después del inicio de la formación del endospermo, el cigoto empieza las divisiones nucleares y celulares que resultan en la formación del esporofito embrionario (5,6). El resultado del desarrollo subsecuente de estas estructuras, de los tegumentos que dan origen a la testa y en algunos casos el de la nucela que origina el perispermo, será la formación de lo que llamamos la semilla (6).

El óvulo en *Turbinia corymbosa* es anátropo, unitégmico, con un saco embrionario recto, largo y delgado y un micrópilo largo y muy estrecho (7). El óvulo maduro de *T. corymbosa*, una vez fecundado, se desarrolla al cabo de 120 días en una semilla madura y seca. Para entonces la semilla es dura, pequeña (aproximadamente de 3 mm de longitud), ovoide, de color castaño rojizo y aspecto aterciopelado. Es dicotiledónea, endospermica y en su madurez conserva de dos a cuatro capas de células de aleurona y restos de paredes celulares ricas en galactomanano (8, 9 y 10). Su desarrollo fue estudiado desde óvulo hasta semilla madura, con microscopía óptica (7).

Antecedentes

Las Angiospermas presentan tres tipos básicos de formación del endospermo de cuyo resultado se origina la siguiente clasificación.

1) Nuclear o no celular. El núcleo primario del endospermo se divide sucesivamente y forma una célula polinucleada. Esta condición del endospermo persiste hasta que es consumido por el embrión o puede llegar a ser celular más tarde.

2) Celular. La primera división del núcleo primario del endospermo y pocas divisiones nucleares subsecuentes son seguidas por división citoplasmática y formación de paredes celulares

3) Helobial. El núcleo primario del endospermo migra hacia el extremo calazal del saco embrionario, donde se divide y forma dos células; una grande llamada cámara micropilar y otra pequeña llamada cámara calazal (6,11).

En la familia de las Convolvuláceas el endospermo es de tipo nuclear (12).

Se han estudiado los aspectos morfológicos de la diferenciación celular que acompañan el desarrollo del endospermo en las semillas de los generos *Ipomoea* y *Convolvulus*, sin embargo, la atención de los investigadores se centra en los aspectos anatómicos de baja resolución.

Respecto a *I. sinuata*, *I. purpurea* e *I. carnea*, el desarrollo del endospermo es de tipo nuclear, el cual llega a ser celular después del inicio de la formación de paredes celulares en el estado tardío del proembrión globular. En la semilla madura el endospermo persiste como una banda de dos a cuatro capas de células vivas de grosor (13).

En *Convolvulus arvensis* el núcleo primario del endospermo se divide poco después de la fecundación. Hacia el quinto día, el saco embrionario está cubierto internamente por una capa periférica de citoplasma polinucleado y denso. Al noveno

día el endospermo llena completamente el saco embrionario y es totalmente celular, excepto en el extremo antipodal, donde la formación de células se produce hasta los doce o trece días después de la fecundación (14).

Las semillas pueden ser clasificadas como endospérmicas o no endospérmicas, de acuerdo a la presencia o ausencia de un endospermo bien formado en la semilla madura. En algunos casos, a pesar de que el endospermo está presente, las semillas no se consideran endospérmicas debido a que el tejido se encuentra en forma residual. Tal es el caso en las semillas de *Glycine soja* y *Arachis hypogaea*, donde el endospermo ha sido degradado durante el desarrollo de la semilla o en las semillas de *Lactuca saliva* donde el endospermo está constituido por una capa de una a pocas células de grosor. En estos casos, los cotiledones son el principal órgano de almacenamiento. En algunas semillas endospérmicas, este tejido es masivo y es la fuente principal de reservas en la semilla madura, como es el caso en las semillas de los cereales, de las leguminosas endospérmicas como *Pisum sativum*, *Trigonella foenum-graecum* y *Hymenaea courbaril*, *Phoenix dactylifera* y *Ricinus communis*. En los cereales y algunas leguminosas endospérmicas como en *Trigonella foenum-graecum*, la mayoría de las células del endospermo están muertas en la madurez y el contenido citoplasmático ha sido ocluido por el almacenamiento de sustancias de reserva durante el desarrollo. Sin embargo, las células más externas llamadas capa de aleurona, permanecen como tejido vivo y juegan un importante papel durante la germinación (15).

Se ha visto que durante la germinación de semillas de gramíneas, el endospermo juega un papel central en la fase de desarrollo heterótrofo de las plantas, dado que las células de la capa de aleurona del endospermo, responden a señales químicas provenientes del embrión, secretando enzimas que degradan los materiales de reserva del endospermo en sus distintos componentes, los cuales nutren al embrión (16,17).

En el caso de las semillas endospérmicas dicotiledóneas, se ha empezado a estudiar la función de este tejido durante la germinación. Se ha visto que durante la germinación de algunas leguminosas endospérmicas, entre las que se encuentra *Trigonella foenum-graecum*, las células de la capa de aleurona son las responsables de la síntesis y secreción de las enzimas necesarias para la degradación del galactomanano (18,19).

Los estudios estructurales realizados sobre estos aspectos, son a nivel de microscopía fotónica (7,13 y 14) y sería de gran importancia realizar investigaciones a nivel ultraestructural. Cuando se usa el microscopio electrónico como instrumento de observación, el tipo de procesamiento de especímenes biológicos, es muy importante para la obtención de buenas imágenes.

El procesamiento de especímenes tiene que ver con una serie de pasos bien definidos, como son la fijación, la deshidratación y la inclusión, cuya meta es la de preservar la estructura fina del espécimen.

El criterio generalmente empleado en la elección del procesamiento del material biológico, depende del éxito obtenido por otros investigadores en especímenes similares (20) y de la introducción de modificaciones cuando así se requiere (21).

Objetivo

El presente trabajo tiene como propósito estudiar los cambios estructurales y ultraestructurales que el endospermo de *Turbina corymbosa* presenta en las primeras etapas del desarrollo.

Material y Método

Las semillas de *Turbinia corymbosa* utilizadas en la presente investigación fueron colectadas a finales de septiembre de 1983, de una planta cultivada en Nepantla, Edo. de México. Se separaron en tres grupos de acuerdo a la apariencia externa de los órganos florales. La letra A denota a las semillas contenidas en los vestigios florales con corola seca, la letra B designa a las semillas contenidas en flores que han perdido la corola y presentan el estilo verde y el estigma seco y la letra C aquellas contenidas en el fruto verde sin estilo. La longitud de las semillas varió entre 2.0 y 5.0 mm.

Las semillas fueron cortadas en pequeños trozos de aproximadamente 1 mm³ y fijadas durante 24 h en una solución de glutaraldehído al 3% y paraformaldehído al 1.5%, en tres distintos amortiguadores: fosfatos, cacodilatos y s-colidina a la misma concentración (0.05 M), pH 7.2 y contenido de sacarosa 0.06 M. Una vez transcurrido el tiempo de fijación, las semillas fueron lavadas tres veces en sus respectivos amortiguadores. Los tratamientos fueron diferenciados mediante la siguiente clave: S para colidina, C para cacodilatos y F para fosfatos.

A continuación, una parte de las semillas fue postfijada en una solución acuosa de permanganato de potasio al 2% durante 20 min, y la otra parte en una solución amortiguada de tetróxido de osmio al 2% durante 2 h. Las muestras postfijadas en permanganato de potasio fueron designadas por la letra K, aquellas postfijadas con tetróxido de osmio, por la letra O.

Esta separación se llevó a cabo en los tres grupos de semillas expuestas a los tres distintos amortiguadores, manteniendo las mismas condiciones de concentración, osmolaridad y pH iniciales. Transcurrido el tiempo de postfijación, las muestras tratadas con tetróxido de osmio, fueron lavadas tres veces en sus respectivos amortiguadores, mientras que las tratadas con permanganato de potasio se lavaron en agua destilada.

Una vez eliminado el exceso del segundo fijador, las semillas fueron deshidratadas en una serie gradual de alcoholes (30, 50, 70, 90 y 100%). A continuación se colocaron en óxido de propileno. Las muestras permanecieron 20 min, en los alcoholes de 30, 50 y 70%, en los alcoholes de 90 y 100%, 40 min (2 cambios) y en óxido de propileno 40 min (2 cambios).

El siguiente paso fue colocar las muestras en una mezcla de resinas epóxicas y óxido de propileno en una proporción de 1:2 durante 24 h. Al día siguiente se colocaron en una mezcla de resinas y óxido de propileno en una proporción de 1:1, donde permanecieron 24 h. Después fueron colocadas en resina pura durante 24 h y finalmente en resina con catalizador (2,4,6, tris-dimetilaminofenol) e incubadas en una estufa durante dos días a 60°C.

Una vez polimerizada la resina, se obtuvieron cortes semifinos de 200 nm de grosor en un ultramicrotomo MT-2B, Sorvall, los cuales fueron teñidos con azul de toluidina. En la observación de los cortes y la toma de fotomicrografías se usó un fotomicroscopio Zeiss II.

Para el estudio en el microscopio electrónico se eligieron zonas del endospermo, y se obtuvieron cortes finos de 60 a 90 nm de grosor con cuchillas de vidrio. Se

montaron en rejillas de cobre previamente cubiertas con una película de formvar, y después se contrastaron con citrato de plomo al 2% por 3 min y/o acetato de uranilo al 2% durante 20 min. Las rejillas fueron observadas en un microscopio electrónico Zeiss EM-9.

Resultados

Estadio A (Láminas I y II)

En este estadio, (fig. 1), la semilla presenta la cubierta seminal constituida por una capa de células epidérmicas prismáticas rectangulares grandes (Ep), con núcleo prominente que en algunos casos presentan una proyección de la membrana, el primordio de los tricomas.

Subyacente a la epidermis se observan células pequeñas cuboidales con núcleos densos que corresponden a la subepidermis (Se), diferenciables de las células parenquimatosas (Pa) de mayor tamaño y forma irregular.

El endospermo (En), (figs. 1 y 2), restringido a la periferia del saco embrionario, está constituido por una masa citoplasmática rica en vacuolas y núcleos prominentes los cuales pueden presentar uno o dos nucléolos muy densos. Hacia el centro queda un espacio cuyo contenido es homogéneo lo que le da el aspecto de una banda irregular que rodea una vacuola central. En la región vecina a las células parenquimatosas de la testa se observa una banda más densa, que podría corresponder a la pared celular.

Al microscopio electrónico (fig. 6), se observa que el arreglo de las células es en forma de prolongaciones angostas que se ensanchan en la región del núcleo, mientras que en otras regiones, permanecen como proyecciones muy delgadas.

Se observa claramente (figs. 6 y 7), que el citoplasma próximo al parénquima presenta un contorno digitiforme inmerso en un material fibrilar y laxo de baja densidad electrónica tanto con $KMnO_4$ como con OsO_4 .

El citoplasma (figs. 3, 4 y 5), tiene apariencia granular, contiene mitocondrias, retículo endoplásmico, dictiosomas, cuerpos electrondensos, plastos, polisomas, vacuolas y núcleo con un gran nucléolo.

Las mitocondrias (Mi) (fig. 3), tienen forma esferooidal o alargada y se puede apreciar en ellas crestas mitocondriales de contenido electrondenso.

El retículo endoplásmico (Re) (fig. 4), abundante, aparece como un conjunto de tubos contorneados rugosos de diámetro regular.

Los dictiosomas (Di) (fig. 5), se observan como agregados muy electrondensos y ligeramente resueltos en los extremos de las cisternas donde adquieren apariencia vesicular.

Los cuerpos electrondensos (Ce) (fig. 5), tienen forma esferooidal, están claramente delimitados de otras estructuras celulares. Su estructura interna es de densidad electrónica variable. Se encuentran próximas a los dictiosomas.

Los plastos (Pl) (fig. 5), tienen forma esferooidal o ligeramente elíptica y son relativamente grandes. Aparecen constituidos por dos regiones. La región periférica es de apariencia granular. La región interna aparece clara, bajo el tratamiento aplicado.

Los ribosomas (Pr) (fig. 5), se encuentran formando agregados de apariencia espiral (polisomas) y muchos unidos a membrana de retículo endoplásmico (Rer).

El núcleo (Nu) (fig 3 y 6), muestra una envoltura discontinua, constituida por

fragmentos de doble membrana. La cromatina aparece constituida casi exclusivamente por eucromatina.

El nucléolo (flecha) (fig. 6), es grande y muestra diversas regiones. Se aprecian claramente dos zonas que difieren aparentemente en su organización, ambas tienen estructura granular y densidad de masa distinta.

En este estadio (fig. 8), se observan numerosas divisiones nucleares, en las que se aprecian los cromosomas (Cr) y parte de los microtúbulos (Mt) del huso mitótico.

Estadio B (Láminas III y IV)

En el estadio B (fig. 9), la semilla muestra la cubierta seminal constituida por tres tipos celulares básicos. Las células epidérmicas son grandes, levemente aplanadas y con pequeñas prolongaciones hacia el exterior de la semilla. Las células subepidérmicas, tienen apariencia cuboidal y núcleos densos. Finalmente, se observa una capa de células alargadas perpendiculares a la epidermis que corresponde a las primeras células del esclerénquima en empalizada (Es). Subyacente a esta última capa se encuentran células parenquimatosas, que se extienden formando una gruesa capa y cuyas paredes celulares engruesan conforme se encuentran más próximas al endospermo.

El endospermo (fig. 10), ocupa una región mayor, el citoplasma se empieza a organizar en porciones nucleadas con prolongaciones radiales hacia las regiones más internas que demarcan mejor el espacio homogéneo. Los núcleos son voluminosos con nucléolos conspicuos y están rodeados por una fina capa de citoplasma que se prolonga en forma más o menos radial, y dan la apariencia de red al endospermo. Este se encuentra desplazado a la periferia, más próximo a las células parenquimatosas de la cubierta seminal, las cuales en esta región han engrosado sus paredes y toman un aspecto aplanado.

A nivel ultraestructural (figs. 11 y 12), se aprecia claramente que el endospermo próximo al párenquima es de constitución celular. En algunas zonas vecinas al parénquima se observa un material fibrilar, electrodenso, entre las proyecciones celulares. Entre algunas células ya se observa una fina línea electrodensa.

El citoplasma (figs. 12 13 y 14), presenta una composición granular y diversos organelos citoplasmáticos, entre los que se encuentran: mitocondrias, retículo endoplásmico, dictiosomas, vacuolas electrodensas, plastos, polisomas y un nucléolo, con su nucléolo.

Las mitocondrias (figs. 12 y 13), tienen forma esférica. Las crestas mitocondriales se definen nítidamente y tienen apariencia de estructuras alargadas y esféricas. Evidencian un contenido de baja densidad electrónica en lo que es la matriz mitocondrial. Parece ser que varias de ellas están en división.

El retículo endoplásmico (figs. 12 y 14), se presenta típicamente como un conjunto de túbulos rugosos. Los ribosomas se encuentran sobre los túbulos en gran cantidad, además, forman abundantes polisomas.

Los dictiosomas (fig. 12), aumentan en número en las células observadas, muestran con bastante definición su estructura. Se puede apreciar que están constituidos por cisternas apiladas. Las cisternas son paralelas entre sí y casi planas. En algu-

nos dictiosomas puede observarse que están constituidos por tres o mas cisternas. Algunas cisternas muestran sus extremos dilatados. Los dictiosomas se encuentran en la vecindad de vesículas o gránulos muy electrondensos.

Las vesículas o cuerpos electrondensos (figs. 12 y 14), tienen forma esferoidal, están claramente delimitadas de otras estructuras celulares. Su estructura interna es de densidad variable, arreglada en forma granular y laminar. Se encuentran próximas a los dictiosomas.

Los plastos (fig. 13), son de dimensiones relativamente grandes, de forma esferoidal y se encuentran diferenciados en dos regiones nítidamente distinguibles. La región externa presenta apariencia granular y la región interna esta constituida por material soluble bajo el tratamiento aplicado.

Los núcleos (fig. 14), son muy grandes y alargados. Se observa claramente la membrana nuclear cuyo elemento externo presenta gránulos electrondensos (ribosomas). La cromatina tiene aspecto gránulo-fibrilar.

El nucléolo, es grande y pueden destacarse en él diversas regiones.

Estadio C (Láminas V y VI)

El estadio C (figs. 15 y 16), se caracteriza por presentar la cubierta seminal más diferenciada, la epidermis presenta células de forma irregular más o menos planas con núcleos o sin ellos y con proyecciones externas conspicuas. Las células subepidérmicas muestran un pequeño alargamiento en dirección perpendicular a la epidermis. Las células subyacentes han constituido dos o tres capas de células alargadas perpendicularmente a las células epidérmicas, formando el esclerénquima en empalizada. Las células parenquimatosas alcanzan una mayor diferenciación; aquéllas que se encuentran cercanas al esclerénquima son pequeñas mientras que las células cercanas al endospermo son voluminosas y de paredes celulares mucho más gruesas y las vecinas al mismo quedan como restos de paredes celulares colapsadas. En este estadio las células del parénquima contienen abundantes granos de almidón.

En el endospermo (fig. 16), se puede observar que el tamaño de las porciones delimitadas por el citoplasma difieren en varios aspectos. En la región próxima al parénquima el tamaño de las porciones es pequeño y forman una capa uniforme de células, mientras que en las regiones más distantes son de mayor tamaño y uniformes, las porciones cercanas al embrión aparecen como restos celulares. Además, el material contenido en las porciones delimitadas por finos hilos citoplasmáticos presentan distintos arreglos, ya que en algunos casos se observan depósitos granulosos y en otras aunque el material tenga un aspecto homogéneo muestran distintas densidades.

A nivel ultraestructural (fig. 17), las células del endospermo próximas al parénquima tienen paredes celulares muy delgadas que se interrumpen a intervalos, por conexiones citoplasmáticas, los plasmodesmos (Ui).

El citoplasma (fig. 17), es muy rico en retículo endoplásmico y polisomas, estos últimos le dan apariencia granular.

Los dictiosomas (fig. 18), así como las vesículas que de ellos derivan son más abundantes y se ven claramente resueltos.

Los cuerpos electrodensos y las mitocondrias (figs. 17 y 18), están presentes en el citoplasma. Los primeros tienen una forma más o menos definida, que en muchos casos es esférica y siempre se les observa delimitados por membrana. Estos en algunos casos se hallan asociados a vacuolas en las que puede apreciarse un material fibrilar.

El núcleo (fig. 19), tiene en su mayoría la cromatina distribuida homogéneamente y casi no se observa cromatina condensada.

El nucléolo es aún de gran tamaño y presenta dos zonas claramente distinguibles de apariencia granular fina.

En cortes correspondientes a etapas finales del mismo estadio (fig. 19), las células vecinas al parénquima tienen paredes celulares mucho más estructuradas y claramente visibles que en etapas anteriores, y se observa nitidamente la lámina media (L) y los espacios intercelulares (Ei).

En el citoplasma (figs. 19 y 20), se observan regiones de apariencia homogénea, granular fina, parcialmente compartamentalizadas, por estar rodeadas de retículo endoplásmico, mientras que en otras se concentran en gran cantidad organelos membranosos del tipo dictiosomas, retículo endoplásmico y mitocondrias.

Lámina I

Estadio A

Fig. 1. Se observa externamente la epidermis (E), la subepidermis (Se), un parénquima abundante (Pa) y el endospermo (En). $\times 26$.

Fig. 2 Detalle del endospermo. Se observa: algunas células parenquimatosas de la testa (Pa), la pared celular (Pc), citoplasma (Ci), núcleos (Nu) y nucléolos (flecha). $\times 65$.

Fig. 3. Se observa una región citoplasmática del endospermo próximo a la pared celular (Pc), mitocondrias (Mi), retículo endoplásmico (Re), un núcleo (Nu), el nucléolo (flecha) y espacios electronclaros (Ee). Postfijación con KMnO_4 . $\times 9280$.

Fig. 4 Se observan dictiosomas con vesículas en sus extremos (Di), mitocondrias (Mi) y retículo endoplásmico (Re). Postfijación con KMnO_4 . $\times 18480$.

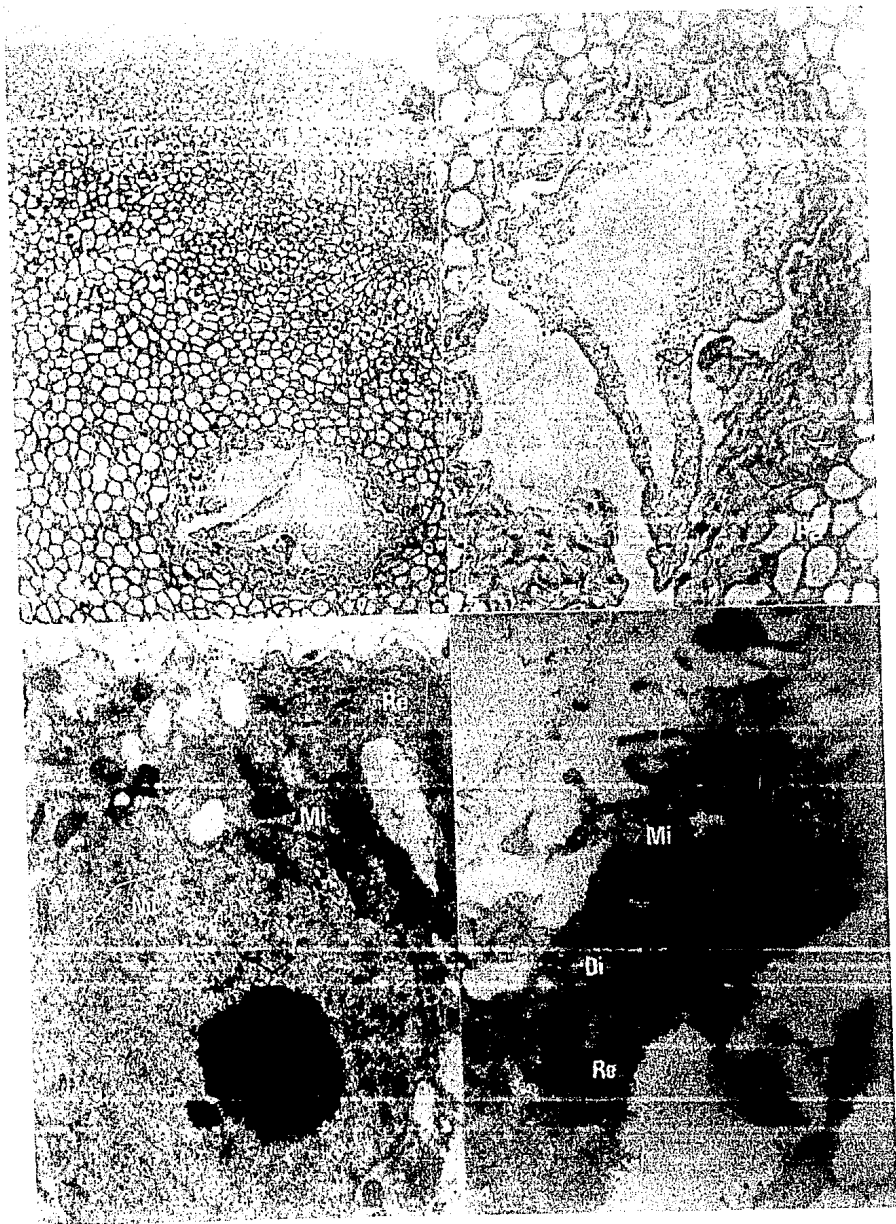


Lámina II

Estadio A

Fig. 5 Se observan cuerpos electrodensos (Ce), un plasto (Pl), retículo endoplásmico rugoso (Rer), mitocondrias (Mi) y polisomas (Pr). Postfijación con OsO_4 . $\times 18480$

Fig. 6 Se observa una porción del núcleo (Nu) y el nucléolo (flecha), retículo endoplásmico (Re) y mitocondrias (Mi). Postfijación con KMnO_4 . $\times 9280$.

Fig. 7 Se observa la pared celular (Pc) y material fibrilar (Mf) inmediata al parenquima, mitocondrias (Mi) y retículo endoplásmico (Re). Postfijación con OsO_4 . $\times 18480$.

Fig. 8 Se observa una división nuclear, cromosomas (Cr), microtúbulos (Mt). Postfijación con KMnO_4 . $\times 14580$.

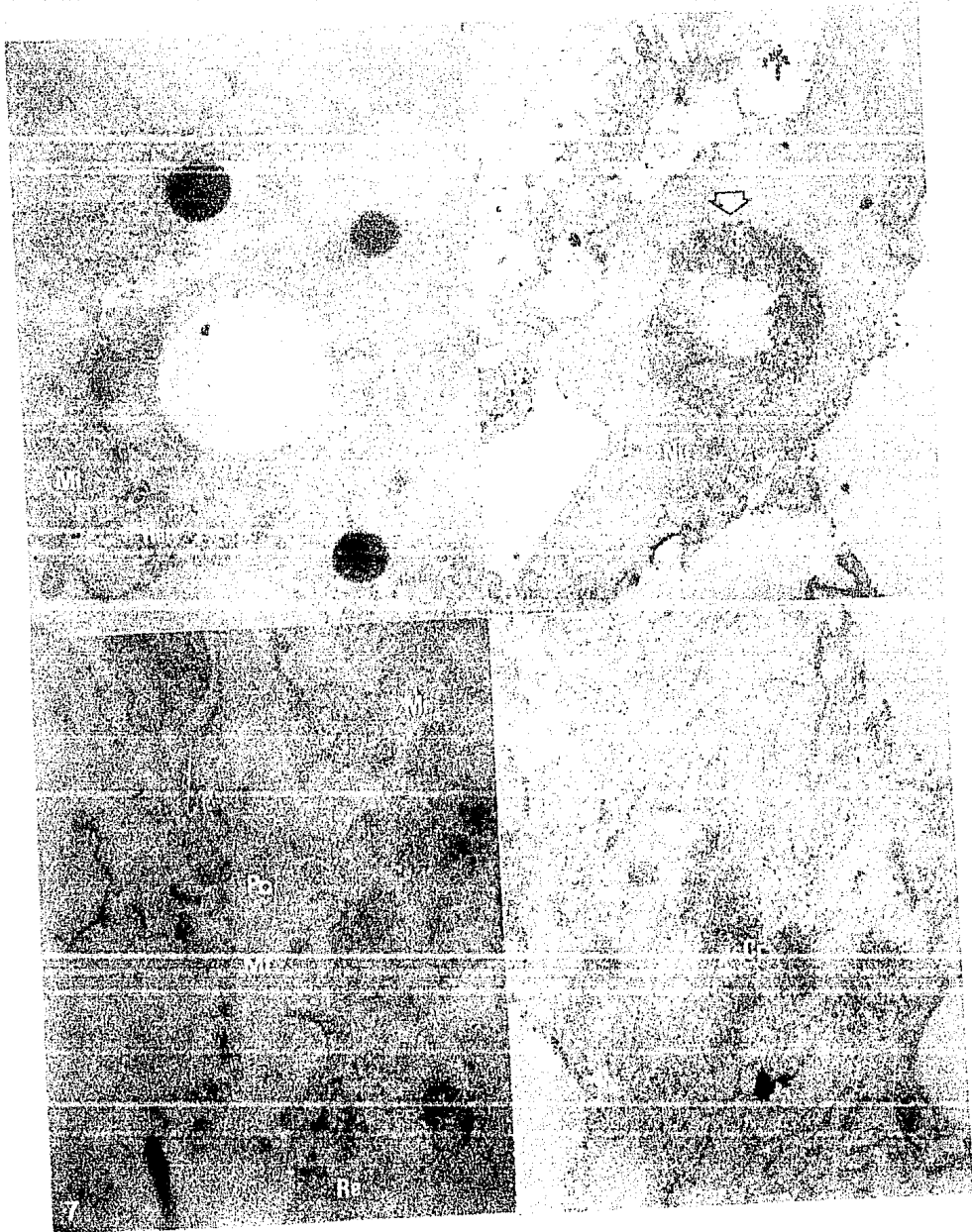


Lámina III

Estadio B

Fig. 9. Se observa: células epidérmicas aplanadas con prolongaciones citoplasmáticas (Ep), células subepidérmicas cuboidales (Sc), células alargadas precursoras del esclerénquima en empalizada (Es) y células parenquimatosas (Pa). $\times 105$.

Fig. 10. Se observa el endospermo (En) con núcleos (Nu), proyecciones citoplasmáticas (Ci) que forman una red y células parenquimatosas aplanadas (Pa). $\times 42$.

Fig. 11. Se aprecia el carácter celular del endospermo (En) próximo al parénquima, la pared celular que lo define (Pc) y Material fibrilar (Mf). Postfijación con KMnO_4 . $\times 3570$.

Fig. 12 Célula del endospermo próximo al parénquima. Se observa: pared celular (Pc) mitocondrias (Mi), retículo endoplásmico rugoso (Rer), polisomas (Pr), cuerpos electrondensos (Ce), dictiosomas (Di) y el inicio de la organización de la lámina media (L). Postfijación con OsO_4 . $\times 18480$.



Lámina IV

Estadio B

Fig.13 Se observan varios plastos (Pl), un gran número de polisomas (Pr) y mitocondrias (Mi). Postfijación con OsO_4 . $\times 92826$.

Fig.14 Se observa: cuerpo electrodensso (Cc), polisomas (Pr), una porción del núcleo (Nu) y el nucléolo (flecha) en el que se distinguen zonas de densidad electrónica variable. Postfijación con OsO_4 . $\times 18480$.

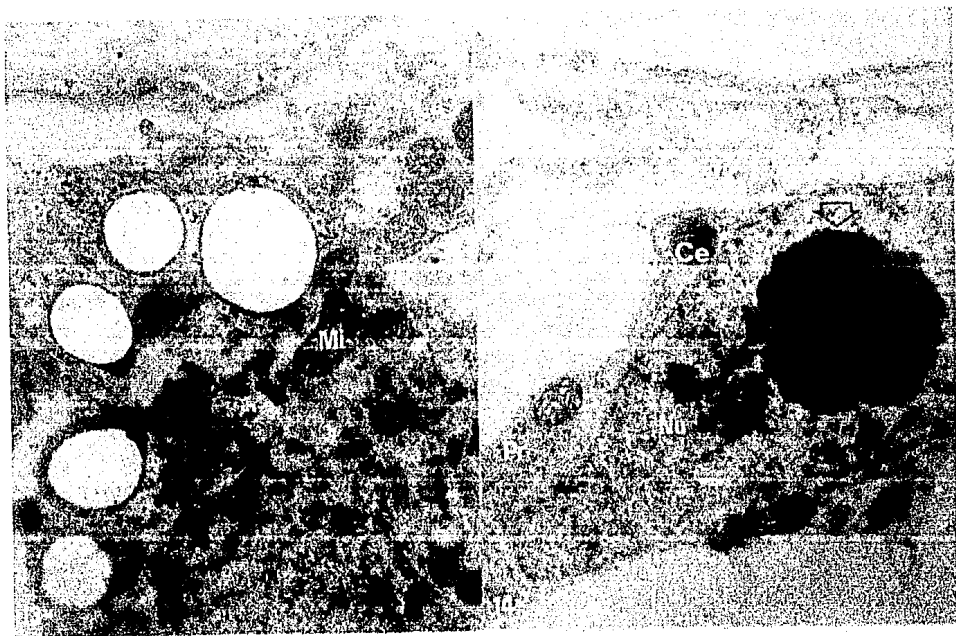


Lámina V

Estadio C

Fig.15 Se observa: células epidérmicas aplanadas (Ep), células subepidérmicas (Se), esclerenquima en empalizada (Es) y células parenquimatosas (Pa) con abundantes cuerpos refringentes (granos de almidón). $\times 67$.

Fig.16 Detalle del endospermo. Se observa: células parenquimatosas aplanadas (Pa), células pequeñas (Cp), células grandes (Cg) y una porción del cotiledón (Ct). $\times 26$.

Fig.17. Se observan dos células vecinas próximas al parénquima, paredes celulares (Pc), uniones intercelulares (Ui), cuerpos electrondensos (Ce) y mitocondrias (Mi). Postfijación con OsO_4 . $\times 9280$.

Fig.18 Se Observa: el retículo endoplásmico rugoso (Rer), dictiosomas con vesículas en sus extremos (Di) y cuerpos electrondensos asociados a vesículas (Ce). Postfijación con OsO_4 . $\times 9280$.

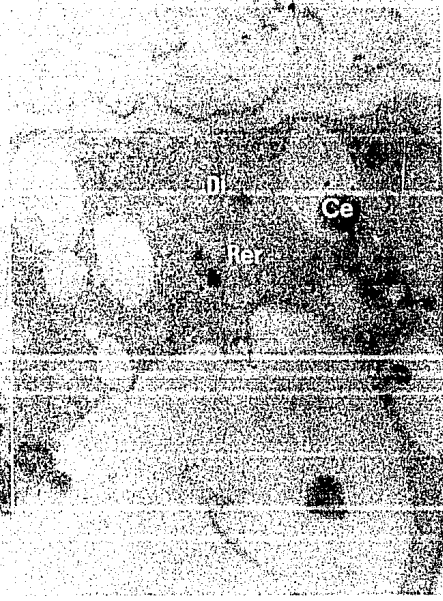
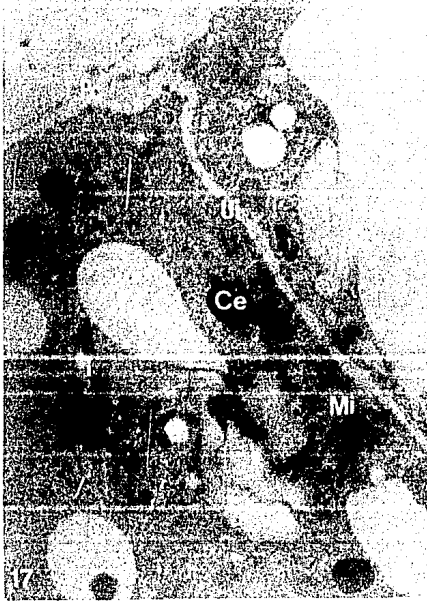
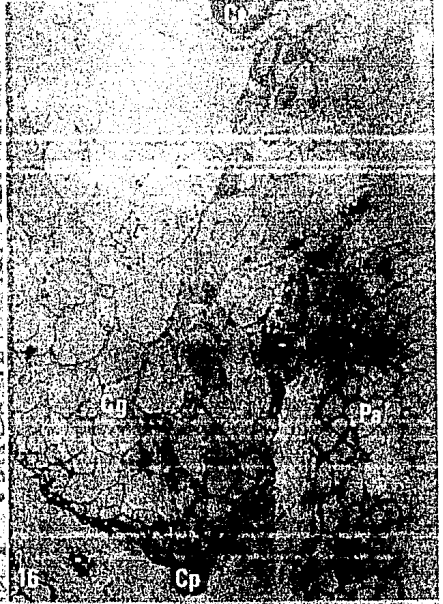


Lámina VI

Estadio C

Fig.19. Etapa avanzada. Región de unión de tres células del endospermo. El citoplasma presenta zonas con material homogéneo (Mh). La lámina media electrodensa (L), paredes celulares (Pc), espacio intercelular (Ei), retículo endoplásmico (Re), núcleo (Nu) y nucléolo (flecha). Postfijación con KMnO_4 . $\times 9280$.

Fig.20 Se observa una región citoplasmática rica en retículo endoplásmico (Re), y dictiosomas (Di). Postfijación con KMnO_4 . $\times 9280$.



Discusión

De las observaciones realizadas en las primeras etapas de desarrollo del endospermo en *Turbina corymbosa* se muestra a nivel de la microscopía óptica, la organización del citoplasma como una banda irregular desplazada hacia el parénquima, la cual está separada de éste por una pared celular que debe corresponder a la célula central, ya que no se observa ninguna interrupción en todo su contorno. Por otra parte, se menciona en los resultados la presencia de un espacio central, que pudiera ser la vacuola de la misma célula, pero que a nivel de la microscopía electrónica no se observa bien definida en su contorno, es decir, no se aprecia una membrana continua o tonoplasto. También se observan proyecciones citoplasmáticas, que con microscopía óptica, se muestran como un contorno irregular rugoso. Por esta razón se piensa que este estado sea el principio en la organización del citoplasma hacia la compartimentalización en células, ya que a lo largo de toda esta banda se distinguen varios núcleos. Este citoplasma visto con el microscopio óptico, tiene un aspecto "espumoso" debido a la presencia de numerosas "microburbujas", que a nivel de microscopía electrónica aparecen como espacios electronclaros con escaso material electrodensito fibrilar, cuando la postfijación es con KMnO_4 . Cuando la postfijación es con OsO_4 , aparecen cuerpos esferoidales muy electrodensos, en la vecindad de dictiosomas y retículo endoplásmico, que pudieran contener material de secreción altamente condensado.

Conforme avanza el desarrollo, se observa más claramente definido el límite de la región central del endospermo a nivel de la microscopía óptica; el citoplasma muestra un aspecto reticular, que a nivel de la microscopía electrónica, se debe a la presencia de una multitud de proyecciones citoplasmáticas, las cuales se extienden a partir de zonas nucleadas. Asimismo, se empiezan a observar las conexiones de material fibrilar con la pared celular periférica, que suponemos corresponde a la organización de la lámina media, ya que en el estadio C, se observan claramente paredes celulares con conexiones intercelulares, es decir, plasmodesmos.

Desde un principio, se aprecia la organización de retículo endoplásmico rugoso, retículo endoplásmico liso y dictiosomas, además, de la organización nucleolar y de la cromatina, lo cual indica una alta síntesis de proteínas, lípidos y seguramente oligosacáridos que culmina en la organización de la lámina media y paredes celulares. De igual manera, esto nos hace suponer la síntesis de cuerpos proteicos y esferosomas, puesto que en las últimas muestras del estadio C, se observan en el citoplasma, las primeras etapas de la organización de material granular ligeramente compartimentalizado, rodeado por abundante retículo endoplásmico y dictiosomas.

En el presente estudio, observamos que la masa citoplasmática multinucleada del endospermo tiene una disposición periférica (estadio A). Conforme avanza el desarrollo del mismo (estadio B) se presenta la formación de proyecciones citoplasmáticas muy delgadas radiales a partir de masas citoplasmáticas nucleadas, que corresponde a una organización celular con un movimiento aparentemente centripeto, es decir, en dirección al embrión.

Estas células (estadio C), presentan vacuolas de diferente tamaño, hacia las cuales se vierten los cuerpos electrodensos, lo cual hace suponer que corresponda

al origen de los cuerpos proteicos, que en el estadio maduro se observan en la capa de aleurona. Esto concuerda con lo registrado para la formación de cuerpos proteicos en *Pisum sativum* (22), como se muestra en el diagrama 1.

La compartimentalización del citoplasma que se presenta en la etapa avanzada del estadio C puede corresponder a la formación de los esferosomas, debido a su estructura y a la relación espacial que guarda con el retículo endoplasmático. Esto estaría de acuerdo a la formación de los cuerpos lipídicos que en *Raphanus sativus* se reporta (23).

En términos generales, los resultados obtenidos en el desarrollo del endospermo de *Turbina corymbosa*, concuerdan con aquellos obtenidos para *Convolvulus arvensis* (14), en donde se ha visto que aproximadamente entre los doce y trece días después de la fecundación, las células del endospermo tienen finas paredes celulares y son altamente vacuoladas. Asimismo, se menciona que aproximadamente entre los quince y veinte días después de la fecundación, las células del endospermo próximas al parénquima, tienen paredes celulares gruesas y que aquellas células más distantes al mismo, son de mayor tamaño y más vacuoladas. También se dice que entre los veinte y treinta y cinco días después de la fecundación, las células del endospermo vecinas a los cotiledones son digeridas, y quedan sólo de dos a seis capas de células, cuando la semilla es madura (14). Sin embargo, se ha reportado que en *T. corymbosa* el desarrollo de la semilla hasta su estado maduro y seco, dura aproximadamente cincoveinte días y que cuando el embrión alcanza el estado de torpedo, es decir, cuando comienza a desarrollar los cotiledones, se inicia la degradación de las células más internas (7).

Como se ha mencionado anteriormente, el procesamiento de especímenes biológicos es un paso crucial en la obtención de resultados reproducibles, cuando se trabaja con el microscopio electrónico. Así, se puede apreciar que en las muestras tratadas con KMnO_4 como segundo fijador, los componentes de la pared celular se resuelven mejor, es decir aparecen más nítidamente definidos y son más electron-densos, mientras que en aquellas muestras postfijadas con OsO_4 aparecen difusos.

Otra diferencia fundamental es la que tiene que ver con el aspecto que muestra la cromatina en el núcleo. Se puede constatar, en muestras postfijadas con KMnO_4 y contrastadas con acetato de uranilo, a diferencia de aquellas contrastadas con citrato de plomo, que permiten una mayor diferenciación de la cromatina en heterocromatina y eucromatina.

Conclusiones

En el presente trabajo se demuestra que el desarrollo del endospermo en la semilla de *Turbina corymbosa* es de tipo nuclear, como en otras *Convolvuláceas*. Asimismo, se pone de manifiesto que dicho desarrollo pasa por dos fases; la primera, involucra numerosas divisiones nucleares, mientras que la segunda involucra la organización celular con aparición y desarrollo de paredes celulares. La primera fase ocurre tempranamente durante la ontogenia de la semilla, es decir, cuando el embrión se encuentra en la etapa temprana del estado globular(7).

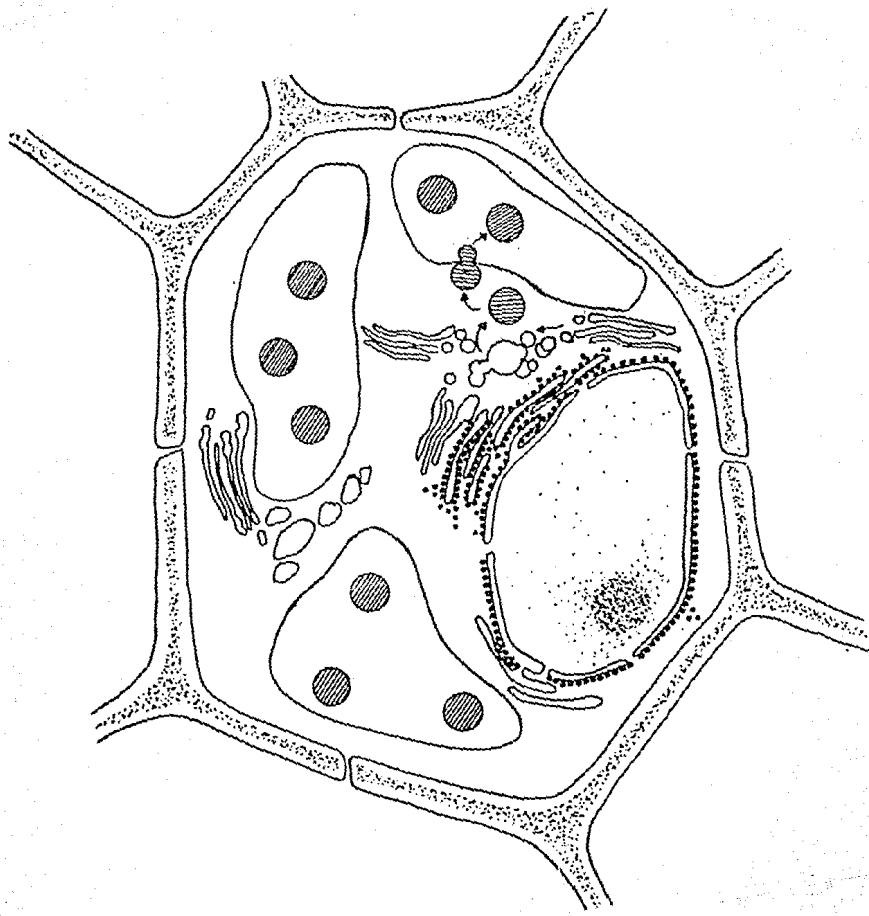
Algunas evidencias hacen suponer que el origen de los esferosomas y cuerpos proteicos pudiese ser a partir del retículo endoplasmático y de los dictiosomas.

Es evidente, que el desarrollo del endospermo, puede ser un sistema adecuado en el estudio de la génesis de las paredes celulares, de los cuerpos proteicos y de los esferosomas.

En cuanto a las técnicas de procesamiento del espécimen, el uso de los dos segundos fijadores y de los contrastantes nos proporciona mayor información sobre la estructura de las células del endospermo.

Por lo que respecta a los vehículos para la fijación, es difícil evaluar su papel con los resultados obtenidos.

Sería importante realizar este tipo de estudios con plantas cultivadas en invernaderos, con el fin de obtener semillas con un tiempo de desarrollo preciso. Asimismo, estudios citoquímicos y autorradiográficos ayudarían a dilucidar la naturaleza de estructuras tales como los cuerpos electrondensos y el origen de cuerpos proteicos y esferosomas, y desde luego, correlacionar el estudio íntegro de las estructuras de la semilla.



Referencias

- (1) Bernal, J.D. 1979. *La Ciencia en la Historia*. Editorial Nueva Imagen. México. pp 110-162.
- (2) Díaz, J.L. 1977. *Uso de las Plantas Medicinales en México*. Monografías Científicas II. IMEPLAN. México.
- (3) Derry, T.K. *Historia de la Tecnología*. Vol. 1 Siglo Veintiuno Editores S.A. Mexico D.F.
- (4) Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de America. 1979. *Semillas*. Compañía Editorial Continental. México D.F. pp 19-46.
- (5) Bold, C.H. 1973. *Morphology of the plants*. Harper International Editions. New York. pp 570-600.
- (6) Esau, K. 1976. *Anatomía Vegetal*. Omega. Barcelona. pp 572-620, 641-661.
- (7) Márquez-Guzmán, G.J. 1986. *Anatomía e Histoquímica del Desarrollo de la Semilla de Turbina corymbosa (L.) Raf. Convolvulaceae*. Tesis Doctoral. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- (8) Márquez-Guzmán, J. y Laguna-Hernández, G. 1982. *Anatomía de la Semilla y Germinación de Turbina corymbosa (L.) Raf., Convolvulaceae*. *Phyton*. 42 (1): 1-8.
- (9) Brechú, A.E. 1980. *Identificación del Galactomanano en la Semilla de Turbina corymbosa y Observación de los cambios del Endospermo durante la Germinación*. Tesis profesional. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- (10) Laguna-Hernández, G., Márquez-Guzmán, J. y Engleman, M.E. 1984. *Ultrastructure of the Aleurone Cells of Mature Seeds of Turbina corymbosa. (Convolvulaceae)*. *J. Pl. Anat. Morphol.* 1 (1): 39-44.
- (11) Bhojwani, S.S. y Bhatnagar, S.P. 1981. *The Embryology of Angiosperms*. thirth Edition. Vikas Publishing House. PVT. LTD. Delhi.
- (12) Cronquist, A. 1981. *Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York.
- (13) Kaur, H. y Singh, P.R. 1970. *Structure and Development of Seeds in three Ipomoea Species*. *Jour. Ind. Bot. Soc.* 49: 168-174.
- (14) Srepleng, A. y Smith H.F. 1960. *Anatomy of the Seeds of Convolvulus arvensis*. *Amer. Jour. Bot.* 47 (5): 386-392.
- (15) Koslowski, T.T. 1972. *Seeds Biology*. Vol. 1 Academic Press. New York.
- (16) Russell, L.J. 1973. *Gibberellins: Their Physiological Role*. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24: 571-598.
- (17) Rappaport, L. 1980. *Plant Growth Hormones: Internal Control Points*. *Bot. Gaz.* 141 (2): 125-130.
- (18) Reid, J.S.G. 1971. *Reserve Carbohydrate Metabolism in Germination Seeds of Trigonella foenum-graecum L. (Leguminosae)*. *Planta (Berl.)* 100: 131-142.
- (19) Reid, J.S.G. y Meier, H. 1972. *The function of Aleurone Layer during Galactomannan Mobilisation in Germinating Seeds of Fenugreek (Trigonella foenum graecum L.), Crimson clover (Trifolium incarnatum L.) and Lucerne (Medicago*

sativa L.): A correlative Biochemical and Ultrastructural Study. *Planta (Berl.)* **106**: 44-60.

(20) Mollenhauer, H.H. y Totten, C. 1971. Studies of Seeds. I Fixation of Seeds. *J. Cell Biol.* **48**: 387-394.

(21) Glauert, M.A. 1975. *Fixation, Dehydration and Embedding of Biological Specimens*. North-Holland Publishing Company. Amsterdam.

(22) Bewley, D.J. y Black, M. 1985. *Seeds Physiology of Development and Germination*. Plenum Press. New York and London. pp 52-70.

(23) Moulin-Traffort, J. y Giordani, R. 1983. Étude Ultrastructurale des Réserves Lipidiques dans les Embryons de radis. *C. R. Sc.* **296** (III): 1069-1076.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA