



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

Ultraestructura del nucléolo del teocintle *Zea perennis*

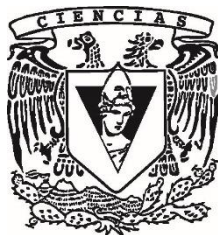
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

DIEGO ALBERTO GARCÍA DIMAS



**DIRECTOR DE TESIS:
Dra. MARÍA DE LOURDES SEGURA VALDEZ
CIUDAD DE MÉXICO, 2020**



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 esta 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.

- El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Nanobiología Celular y en el laboratorio de Microscopía Electrónica de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México.
- Agradezco al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) por el apoyo otorgado al proyecto PE213916 para la publicación de la obra Nanobiología celular en el cual tuve participación.
- Así mismo, agradezco a las Técnicas Académicas del laboratorio de Nanobiología Celular: Biol. Sarai de Jesús Cruz Gómez y M. en C. Ana Paulina Mendoza Von der Boch por su apoyo técnico para el uso del equipo del laboratorio, técnicas de fijación de material biológico, corte, contraste, observación, bibliografía y redacción del presente trabajo.
- Agradezco a la Dra. Reyna Lara Martínez del laboratorio de Microscopia Electrónica del Tlahuizcalpan por su apoyo técnico para la observación de cortes ultrafinos y registro de micrografías electrónicas.
- Agradezco a la Dra. María de Lourdes Segura Valdez y al Dr. Luis Felipe Jiménez García por su apoyo y guía durante todo el proceso de elaboración del presente y por permitirme desarrollarlo en el laboratorio a su cargo.

Agradecimientos

- A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Ciencias.
 - Al Laboratorio de Nanobiología Celular y Microscopía Electrónica del departamento de Biología Celular de la Facultad de Ciencias, UNAM, ya que sin su invaluable apoyo el desarrollo del presente trabajo no habría sido posible.
- A la Doctora Lourdes Segura por toda su ayuda y por compartir un poco de su conocimiento conmigo, por ser una persona admirable y un ejemplo por seguir en lo académico y lo humano.
- Al Doctor Luis Felipe Jiménez por las clases de Microscopía Electrónica disfrazadas de Biología Molecular III que hicieron que mi vida académica tomara el mejor de los caminos: la ultraestructura celular.
- A la Bióloga Saraí de Jesús Cruz y la Maestra en Ciencias Ana Paulina Mendoza por estar siempre dispuestas a ayudar y enseñar, por los días de trabajo, el apoyo incondicional y por brindarme su amistad, las recordaré siempre que esté explorando bloques.
- A la Doctora Reyna Lara por enseñarme a obtener cortes limpios y a usar el microscopio electrónico, por tenerme paciencia y por ser tan gentil siempre.
- A la Doctora Lourdes Agredano por enseñarme a contrastar sin precipitados y responder mis dudas, por ser siempre amable y tenerme paciencia cuando me confundía con los reactivos.
- A Natalia López por amarme siempre, por tu infinito apoyo y por ser parte de mi vida, por motivarme y estar conmigo cuando más te necesité, gracias infinitas por estar siempre conmigo y por cada cosa que haces por mí. Este logro también es tuyo.
- A Erick por iniciar este reto conmigo, por los artículos y las historias, las cosas que vivimos en el laboratorio y fuera de él, los cafés de todas las mañanas y las charlas siempre interesantes, gracias por todo hermano.
- A Natalia Terpán por corregirme siempre, por revisar cada cita de mi tesis para después decirme que estaba mal, por los días de videojuegos y por las charlas donde siempre aprendía algo nuevo, gracias por ser mi amiga.

- A Ángel Samaniego, por siempre ser sincero y ser un amigo de verdad, por tu apoyo, tus sabios consejos y los partidos de americano juntos, gracias por todo angelito.
- A Nubia, Karla, Eduardo, León, Benito, Said, Jeni, Kevin, Ricardo, Eduardo Rodríguez, Sokani, Paquito, Cintia y una larga lista de buenos amigos e increíbles profesores que siempre estarán en mi mente y siempre agradeceré haberlos encontrado en el camino. ¡Gracias!
- A mi Papá y a mi Hermana Jimena, por estar conmigo siempre, por el infinito apoyo y por todo lo que hemos vivido juntos, por no rendirse, por todo su valor, por la fuerza y por el increíble ejemplo que me han dado, por enseñarme tantas cosas y por darme su amor incondicional. Gracias por todo, no me alcanzará la vida ni las palabras para pagarles tanto amor, felicidad, sabiduría y enseñanzas.
Alguna vez I. Newton escribió en una carta a R. Hooke:
“Si he podido ver más allá es porque me encaramé a hombros de gigantes”
sin lugar a duda, son mis gigantes.
- A mis hermanas Mariana y Monserrat, por siempre ser un ejemplo en mi vida, por ser tan diferentes a todos y por enseñarme tanto de la vida, por cuidarme cuando lo necesito y por quererme tanto, siempre están en mi corazón y saben que las apoyaré siempre.
- A mis abuelas y abuelo, quienes siempre me han apoyado de alguna manera, con quienes siempre he podido contar y sé que jamás me dejarían solo. Gracias por todo el apoyo y cariño, siempre serán una parte importante en mi vida.
- A mi mamá, por todo el apoyo durante tantos años, por las noches de primaria haciendo la tarea de último momento y por tanto cariño.

ÍNDICE

Resumen.....	1
1. Introducción	3
2. Antecedentes.....	6
2.1 Justificación.....	6
2.2 Usos del teocintle, maíz e importancia de los mismos para las civilizaciones mesoamericanas	8
2.2.1 Simbolismo del maíz en Mesoamérica.....	10
2.3 Biología del Teocintle.....	11
2.3.1 Descripción del teocintle.....	12
2.3.2 Ubicación taxonómica.....	12
2.3.3 Distribución geográfica del teocintle	14
2.3.4 Meristemas.....	16
2.3.5 Meristemas apicales.....	16
2.3.6 Meristemas Radicales	19
2.4 Células: unidades estructurales fundamentales de la vida	21
2.4.1 Nucléolo celular.....	22
2.4.2 Compartimentalización nucleolar.....	24
2.4.3 Centros Fibrilares (FC)	25
2.4.4 Componente fibrilar denso (DFC)	27
2.4.5 Componente granular.....	29
2.5 Historia de la microscopía.....	30
2.5.1 Primeros instrumentos para amplificar imágenes	30
2.5.2 Primer microscopio.....	32
2.5.3 Microscopio óptico (MO).....	33
2.5.4 Microscopio electrónico de transmisión (TEM).....	34
2.5.5 Microscopio de fuerza atómica (AFM)	38
3. Hipótesis.....	39
4. Objetivos.....	39
4.1 Objetivo general	39
4.1.2 Objetivos Particulares.....	39
5. Metodología.....	40
5.1 Germinación	40
5.1.2 Procesamiento de muestras	41

5.1.3 Cortes semifinos y ultrafinos.....	43
5.1.4 Contraste.....	45
5.1.5 Observación	47
5.1.6 Procesamiento de micrografías	47
6. Resultados.....	48
7. Discusión	54
8. Consideraciones finales	56
Referencias.....	58

“Quetzalcóatl hizo que lloviera fuego del cielo y quitó a Tlacotecutli y puso por sol a su mujer Chalchitlicue, quien fue sol por 312 años. Durante el tiempo que Chalchitlicue fue sol, la gente comía de una simiente como maíz que le dicen “cincocopi” [teocintle].”

Leyenda de los Soles (Ángel Ma-Garibay 1973 y Primo Feliciano Vázquez 1975)

Resumen

El nucléolo es una estructura subnuclear donde se lleva a cabo la biogénesis de los ribosomas citoplásmicos. El DNA recombinante (rDNA) se encuentra agrupado en una región cromosómica específica, a saber: la región del organizador nucleolar (Nucleolar Organizer Region, NOR), mismo que puede ser visualizado al finalizar la telofase, cuando se origina el nucléolo en las células hijas. A pesar de que la anterior es la función principal y la más importante realizada por el nucléolo, se tiene evidencia de la participación del mismo en procesos como la modificación de RNAs pequeños, ensamblaje de ribonucleoproteínas (RNPs), regulación del ciclo celular y envejecimiento.

El nucléolo interfásico está organizado estructuralmente en diferentes componentes básicos comunes en la mayoría de las células eucariotas: el centro fibrilar (CF), componente fibrilar denso (CFD) y el componente granular (CG), mismos que pueden encontrarse acompañados por vacuolas o intersticios. A pesar de lo anterior, recientemente se ha propuesto que no todas las especies cuentan con todos los componentes, diferenciando entre nucléolos tripartitas y nucléolos bipartitas.

Se sabe que en las plantas, por ejemplo, en los meristemos radicales de plántulas de soya, los componentes nucleolares, a saber, el centro fibrilar (FC) y el componente fibrilar denso (DFC) cambian en número en función de la actividad transcripcional; cuando las condiciones de germinación son adversas, el número y tamaño de los componentes antes mencionados disminuye, en contraste, cuando las condiciones son favorables, se ha observado un aumento significativo en la actividad

nucleolar, resultando en la elevada presencia de FCs y DFCs, por lo anterior, los componentes nucleolares pueden ser utilizados como indicadores de la actividad transcripcional (Stępiński, 2013).

El teocintle ha sido considerado como el ancestro directo del maíz actual originado aproximadamente hace 8700 años antes de nuestra era, siendo la especie *Zea parviglumis* la más emparentada genéticamente, y de la cual, se piensa que se originó el maíz doméstico. Thiry y Lafontaine, plantearon en el 2005 que un tercer componente nucleolar que emergió en la transición entre los anamniotas y los amniotas, estos autores realizaron observaciones de nucléolos de diferentes organismos eucariontes, llegando a la conclusión de que la mayoría de los eucariontes cuentan con nucléolos bipartitas, es decir, nucléolos con presencia de dos subcompartimentos nucleolares y no tres. Por otra parte, Risueño, en 1982, describió dos tipos de FCs: homogéneos y heterogéneos, caracterizados por la presencia de fibrillas descritas estructural y citoquímicamente como cromatina laxa; en adición a lo anterior, los FCs heterogéneos presentan un número variable de núcleos de cromatina condensada.

Con base en ambas posturas y en los resultados observados, se puede concluir que las células presentes en los meristemas radicales del teocintle *Zea perennis* son tripartitas, toda vez que lo observado se apega de manera más estrecha a lo propuesto por Risueño en 1982 que a lo propuesto por Thiry y Lafontaine en 2005, encajando mejor en la descripción de un nucléolo con FC heterogéneo.

1. Introducción

El nucléolo es una estructura subnuclear donde se lleva a cabo la biogénesis de los ribosomas citoplásmicos. El rDNA se encuentra agrupado en una región cromosómica específica, a saber: la región del organizador nucleolar (Nucleolar Organizer Region, NOR), mismo que puede ser visualizado al finalizar la telofase, cuando se origina el nucléolo en las células hijas (Heitz, 1931; Mc Clintock, 1934).

A pesar de que dicha función es la principal y más importante realizada por el nucléolo, se tienen evidencias de la participación de este en procesos como la modificación de RNAs pequeños, ensamblaje de ribonucleoproteínas (RNPs), regulación del ciclo celular y envejecimiento (Pederson, 1998; Olson et al., 2002).

El nucléolo interfásico está organizado estructuralmente en diferentes componentes básicos comunes en la mayoría de las células eucariotas: El centro fibrilar (FC), componente fibrilar denso (DFC) y el componente granular (GC), mismos que pueden encontrarse acompañados por vacuolas o intersticios.

El componente granular concentra la mayoría de las proteínas y es el sitio donde concluye el ensamblaje de los ribosomas, por lo tanto, es el componente de mayor tamaño, por otra parte, el componente fibrilar denso, acumula los Small nucleolar RNA (snoRNAs), Small nucleolar RNP (snoRNPs), proteínas y factores de procesamiento del rRNA (Boisvert et al., 2007; Boulon et al., 2010).

A pesar de lo anterior, recientemente se ha propuesto que no todas las especies cuentan con todos los componentes, diferenciando entre nucléolos tripartitas y nucléolos bipartitas (Thyri y Lafontaine, 2011).

El papel del nucléolo en el desarrollo patogénico del cáncer ha sido considerado como factor determinante debido a que numerosos estudios

proteómicos, genómicos y funcionales recientes lo han implicado en la regulación de procesos que incluso no están relacionados con la biogénesis del ribosoma, como serían la respuesta al daño del DNA o al estrés, el mantenimiento de la estabilidad del genoma, la regulación epigenética, el control del ciclo celular, senescencia, expresión global de genes y en general la organización espacial del material genético (Lindström et al. 2018). En particular, se hace énfasis en que se ha encontrado que la biogénesis de ribosomas y la tasa de biosíntesis de proteínas están estrechamente asociadas a los procesos de crecimiento y proliferación celular (Stępiński, 2010).

Por otra parte, en las plantas, se sabe que en células del meristemo radical de plántulas de soya, los componentes nucleolares, a saber: el centro fibrilar (FC) y el componente fibrilar denso (DFC) cambian en número en función de la actividad transcripcional; cuando la temperatura de germinación se encuentra aproximadamente a 10 °C y la actividad es baja, el número y tamaño de los mencionados componentes disminuye, en contraste, cuando la temperatura es óptima, aproximadamente 25 °C, los estudios morfométricos han mostrado un aumento significativo en la actividad nucleolar y en consecuencia, en la presencia de FCs y DFC es más alta. Sin embargo, el tamaño promedio de los FCs es similar independientemente de la actividad transcripcional; el tamaño de los DFC varió, siendo más grandes en plantas refrigeradas que en plantas a temperatura ambiente (Stępiński, 2013).

Por lo anterior, los componentes nucleolares pueden ser utilizados como indicadores de la actividad transcripcional.

Por otro lado, el teocintle ha sido considerado como el ancestro directo del maíz actual (Doebley, 2004), del cual se tiene evidencia, se originó hace 8700 años antes de nuestra era. Los teocintles pertenecen a la familia de las gramíneas, los

cuales, se encuentran emparentadas significativamente con el maíz, no obstante, debido al poco conocimiento acerca de la utilidad agrícola y ganadera, algunas especies se encuentran en peligro de extinción (CONABIO 2012).

En la actualidad se considera al teocintle como una hierba mala o maleza y es posible encontrarlo en estado silvestre en algunas localidades del país, a pesar de ser un organismo considerado como maleza, puede ser utilizado como alimento alternativo para ganado cuando escasea el forraje (CONABIO 2012).

Se ha concluido, después de diversos trabajos para intentar explicar el origen del maíz, que la especie *Zea mays* ssp. *parviglumis*, perteneciente a la raza Balsas y que se distribuye en los estados de Michoacán, México y Guerrero, fue la especie con mayor participación en el origen del maíz actual, debido a su estrecha relación genética (CONABIO 2012).

2. Antecedentes

2.1 Justificación

Existe evidencia documental sobre la importancia del teocintle en las civilizaciones mesoamericanas previas a la conquista, así como de su importancia biológica en el proceso de la domesticación del maíz actual lo cual confiere importancia cultural y biológica al objeto de estudio.

Para el desarrollo de este trabajo, es preciso agregar características culturales y biológicas del objeto de estudio, por lo que se incluye la historia e importancia del teocintle en las civilizaciones precolombinas, así como la descripción anatómica, ubicación taxonómica, distribución geográfica y una breve descripción de los meristemas, asimismo, la justificación sobre la importancia del estudio ultraestructural en biología, por lo que se consideró necesario mencionar la naturaleza de las unidades estructurales fundamentales de todos los seres vivos, es decir: las células, haciendo énfasis en la diferencia típica propuesta que distingue a las células que conforman a los seres vivos con base en la presencia, o ausencia, de un núcleo celular, resultando en una conclusión clásica que la mayoría conocemos: células procariotas y eucariotas, concluyendo entonces, con las características del nucléolo celular, la compartimentalización y el posible uso de los componentes nucleolares como marcadores de la actividad transcripcional, finalizando con la historia de la microscopía, los procesos realizados para la observación de las estructuras de interés y micrografías obtenidas, así como su análisis, discusión y conclusión. En este trabajo

también se hace un análisis del uso de la microscopía, y en particular del microscopio electrónico de transmisión en el estudio de la célula vegetal, y como ha permitido agregar abundante información sobre la ultraestructura y las relaciones espaciotemporales de los organelos en los procesos del metabolismo celular.

También se analiza el núcleo, característica principal de las células eucariontes, principal compartimento celular en el que se encuentra la mayoría del material genético de una célula, mismo que muestra un organelo altamente especializado: el nucléolo, un subdominio macromolecular cuya función fundamental es ser el sitio en el que se lleva a cabo la síntesis del rRNA y del preensamblado de los ribosomas.

En la actualidad se conoce con bastante detalle la ultraestructura de las células eucariontes. Se ha descrito la morfología del núcleo y nucléolo de plantas y se han propuesto algunas clasificaciones en función de esta. En general se acepta que el nucléolo presenta —a este nivel— tres regiones que reflejan morfológicamente el proceso de biogénesis de los ribosomas. Para las células de teocintle, se desconoce el tipo de nucléolo que presenta.

2.2 Usos del teocintle, maíz e importancia de los mismos para las civilizaciones mesoamericanas

Desde la antigüedad, los habitantes de Mesoamérica entablaron una conexión especial con el maíz, a quien consideraban un regalo de sus dioses, llegando a pensar que incluso ellos mismos, habían sido creados a partir de aquel grano sagrado que cumplía con el papel de sustento alimenticio (Vela, 2011).

El maíz llegó a ser tan importante para las civilizaciones prehispánicas que, incluso, rebasaba el ámbito terrenal y de la subsistencia: se concebía en un nivel cosmológico. Este grano marcaba el ritmo de su cultivo y cosecha, determinaba cuando debían construirse templos, monumentos o declarar la guerra.

Aún después de la conquista española, el maíz conservó su lugar entre los habitantes de la ahora Nueva España, e incluso permaneciendo hasta nuestros días, principalmente en la gastronomía. Un ejemplo es el uso del totemoxtle (hoja del maíz) en la preparación de tamales, continuando con su función natural: proteger al maíz, ahora transformado (Vela, 2011).

Los estudios reconocen a México como su centro de origen y domesticación (Rendón-Aguilar et al., 2019) y en particular a las tierras altas de los Valles Centrales de Oaxaca, por ser las localidades con los reservorios genéticos más importantes de maíz en el mundo (Rendón-Aguilar et al., 2015).

El maíz actual, es producto de la domesticación realizada por los primeros habitantes de Mesoamérica, quienes comenzaron la recolección del teocintle, seleccionando a los organismos que contaban con semillas más blandas, quienes aproximadamente 45 siglos antes de la publicación del libro “El origen de las especies”

de Charles Darwin, realizaron, sin saberlo, una de las primeras selecciones artificiales (Vela, 2011).

El teocintle contaba con características que lo hacían atractivo para los recolectores ya que era abundante, las semillas eran fáciles de retirar y las más suaves resultaban aptas para su consumo. La recolección estaba a cargo de las mujeres, quienes a lo largo del tiempo acumularon conocimiento sobre los ciclos de vida y las partes que podían ser útiles, por lo tanto, la manipulación selectiva enfocada a la dureza de los granos, dio lugar a modificaciones en la planta, dejando atrás las semillas duras para dar paso a semillas que no se desprendían y estaban cubiertas de hojas, así como el aumento en el tamaño de las mazorcas, que tuvo como resultado, una mayor cantidad de granos (Vela 2011).

Dicho proceso de domesticación ocurrió en la región del río Balsas en el estado de Guerrero; este proceso, en conjunto con las técnicas de cultivo posteriores en distintas regiones, tomaron algunos siglos en perfeccionarse hasta resultar en lo que conocemos actualmente, a partir de lo anterior, el cultivo del maíz se convirtió en la principal actividad de las sociedades mesoamericanas, asimismo, dicha actividad cobró gran relevancia en la política, la sociedad y la cultura (Vela 2011).

2.2.1 Simbolismo del maíz en Mesoamérica

Al paso del tiempo, hacia el periodo preclásico (ss. II - VIII D.N.E); mientras en América comenzaba la construcción de Tula y en Europa Ptolomeo realizaba una compilación de las estrellas que podían observarse sin la ayuda de instrumentos ópticos, el Almagesto y los tratados astrológicos Tetrabiblos, así como, la Geographia; el cultivo del maíz y sus hojas en América, se asociaba con dos materias primas de color verde, en la cultura olmeca se relacionaba las plumas del quetzal y la jadeíta que hasta la llegada de los españoles se conservaban como símbolos de prestigio y se mantenían impregnadas de un profundo simbolismo (Vela, 2011).

Como ya se mencionó, el hombre se equiparaba con el maíz y el mundo se concebía como un campo con cuatro lados que los dioses habían cultivado, por lo que, la planta del maíz y los granos se relacionaban estrechamente con la estructura del universo, por una parte, los colores de los granos se asociaban con cada uno de los rumbos (norte, sur, este y oeste), y por otra, la planta se vinculaba con el eje del mundo. En las representaciones olmecas, el dios del maíz aparece frecuentemente rodeado por cuatro espigas de la planta o por cuatro hachas, lo que indicaba que el maíz se encontraba en el centro del universo y constituía el axis mundi (eje del mundo), esta visión cosmológica permaneció entre los pueblos de las épocas posteriores e incluso, sigue presente en los grupos étnicos actuales. La representación del maíz en los pueblos mesoamericanos se encuentra basada en la concepción del mismo, en otras palabras, en el papel asignado como sustento y como organizador del universo, en el cual, según la mitología olmeca, era un componente inefable. El maíz era visto, por lo tanto, como una mezcla de respeto, admiración y un elemento presente en la vida cotidiana (Vela, 2011).

2.3 Biología del Teocintle

Se ha propuesto al teocintle *Zea perennis* como el ancestro inmediato del maíz actual (*Zea mays*), cultivado por las antiguas civilizaciones mesoamericanas. Son pastos de hábito muy variable, con ciclos de vida anuales o perennes con similitudes genéticas y físicas muy estrechas con el maíz, éstos se distribuyen en diferentes poblaciones de forma aislada desde el sur de Chihuahua, México, hasta el suroeste de Nicaragua, sin embargo, la mayor diversidad está en territorio mexicano (Sánchez y Ruíz 1996, Wilkes 2004).

Gracias a los trabajos realizados por Sánchez y Ruíz en 1996 y Wilkes en 2004, se sabe que los teocintles anuales son organismos diploides $2n=20$, es decir, cuentan con un juego doble de 10 cromosomas al igual que el maíz. Por otra parte, en el caso de los teocintles perennes, es normal encontrar organismos diploides $2n=20$, al igual que el caso anterior, o bien, organismos tetraploides $2n=40$, es decir, cuentan con un juego doble de 20 cromosomas, cabe mencionar que éstos últimos, sólo se encuentran en México.

2.3.1 Descripción del teocintle

El teocintle es una planta monoica (plantas con estructuras reproductoras masculinas o femeninas), erecta, con altura variable que puede oscilar entre los 0.65 y los 3 m de manera similar al maíz, presencia de raíces adventicias en los nudos inferiores, tallo liso que puede ser verde o rojizo y en algunas ocasiones hueco. Hojas con longitud entre 6 y 15 cm, vellosas, abiertas hasta la base con presencia de tricomas; ligula laminar de 2 a 5 mm de largo; láminas dísticas lanceoladas, con longitudes entre los 20 y 65 cm y entre 1.8 y 5 cm de ancho, aplanadas con nervio medio destacado y ápice acuminado, hirsutas o pilosas, con inflorescencia masculina apical, paniculada, con longitud entre los 9 y 25 cm con pequeñas espigas dispuestas en pares, una sésil y otra pediculada cubiertas por vainas, espigas dísticas articuladas con espiguillas cubiertas por la cúpula (raquis articulado) con longitud entre los 6 y 10 mm y ancho entre los 4 y 6 mm, cubiertas por la primera gluma, endurecida y triangular; segunda gluma membranosa y glumela inferior hialina (Espinosa y Sarukhán, 1997).

2.3.2 Ubicación taxonómica

Clasificar a los organismos resulta importante en biología, toda vez que la clasificación, a grandes rasgos, refleja las relaciones entre diferentes grupos taxonómicos tomando en cuenta caracteres morfológicos, moleculares o anatómicos, entre otros; por lo tanto, el teocintle, al ser un ser vivo que forma parte de la diversidad del planeta, está sujeto a clasificaciones. Por una parte, puede ser clasificado con

base en su distribución geográfica y a las condiciones ecológicas existentes donde se distribuyen sus poblaciones, estos criterios fueron propuestos por Wilkes en 1967, con los cuales clasificó al teocintle en 4 razas para México: Nobogame, Mesa Central, Chalco y Balsas y 2 razas más para Guatemala: Guatemala y Huehuetenango.

Por otra parte, Iltis y Doebley en 1980, propusieron una clasificación basada en características morfológicas y de distribución geográfica dividiendo al género *Zea* en dos secciones: Luxuriantes, que incluye a *Zea perennis*, *Zea diploperennis*, *Zea luxurians*, y *Zea nicaraguensis* y sección *Zea*, que incluye a *Zea mays*, misma que se divide en *Zea mays* spp. mexicana para las razas Chalco, Mesa Central y Nobogame, *Zea mays* spp. parviglumis para las raza Balsas, *Zea mays* spp, huehuetenangensis para la raza Huehuetenango y *Zea mays* L. spp. mays para el maíz cultivado (Cuadro 1).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de los teocintles.

Sección	Anuales	Perennes
Luxuriantes	Zea luxurians	Zea perennis
	Zea nicaraguensis	Zea diploperennis
	Zea sp. (Oaxaca)	Zea sp. (Nayarit)
		Zea sp. (Michoacán)
Zea	Zea mays ssp. Huehuetenanguensis	
	Zea mays ssp. mexicana Razas: Nobogame Durango Mesa Central Chalco	
	Zea mays ssp. Parviglumis	

2.3.3 Distribución geográfica del teocintle

Con base en los procesos de diversificación e intercambios genéticos con el maíz, el teocintle ha almacenado una gran cantidad de genes que le permiten adaptarse a

diferentes circunstancias, lo que propició una dispersión y establecimiento de poblaciones en una amplia diversidad de ambientes.

La mayoría de los teocintles crecen dentro o en la periferia de campos de cultivo de maíz aprovechando los nichos disponibles en los mismos (Sánchez y Ruíz, 1996).

La distribución del teocintle no es uniforme, debido al aislamiento ecogeográfico asociado a la irregularidad topográfica del país. Estas características, en teoría, favorecen los procesos evolutivos generando especiación vicariante (Sánchez, 2015). Los teocintles pueden encontrarse, en general, en el occidente de México y en la región de América Central, siendo las zonas con mayor número de poblaciones la Sierra Madre Occidental, Llanuras de Jalisco y el Bajío, Mesa Central, Tierra Caliente y la Cuenca del Río Balsas (Fig.1).

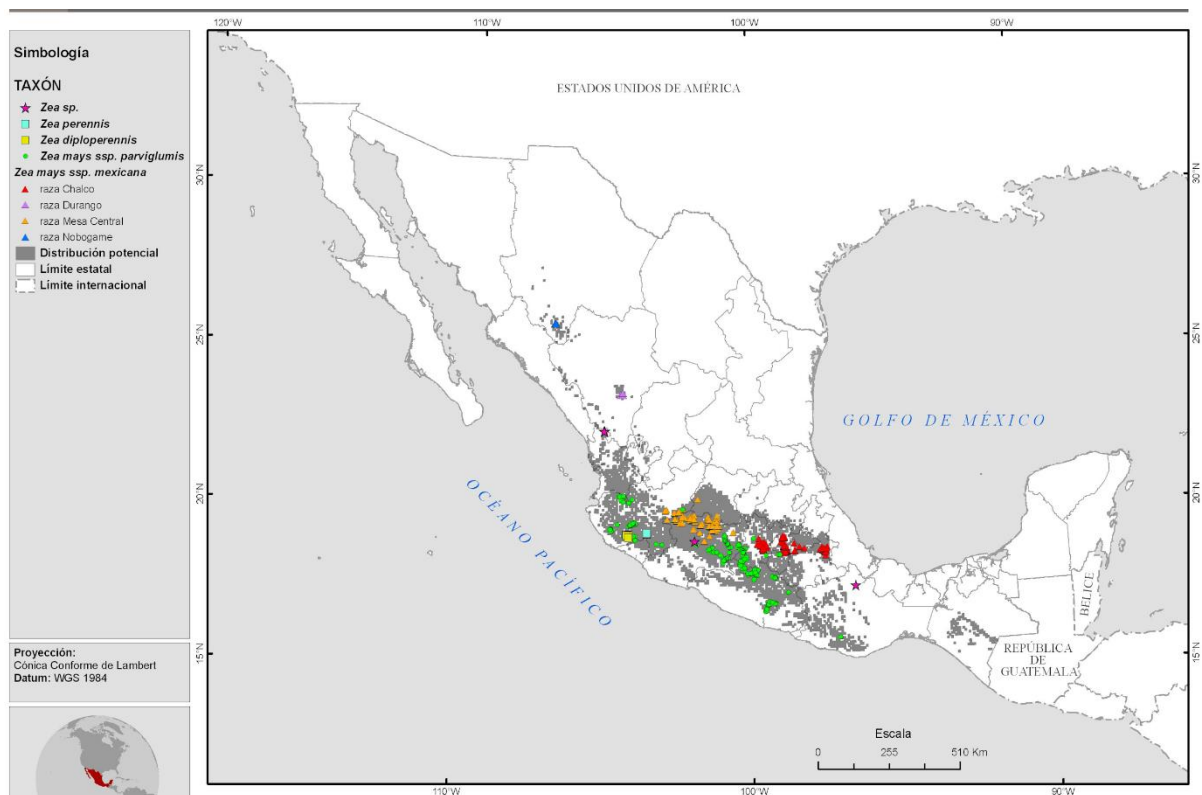


Figura 1. Distribución geográfica del teocintle en México (CONABIO, 2012).

2.3.4 Meristemos

Los meristemos son zonas con presencia de células indiferenciadas cuya función es dividirse de forma ordenada, la estructura y procesos fisiológicos de éstas son notablemente diferentes al resto de las células de la planta, dichas zonas se dividen en tres categorías: meristemos apicales, laterales e intercalares. Sin embargo, si se considera el tiempo de aparición de los meristemos, se pueden dividir en primarios y secundarios.

Como se ha descrito, las angiospermas producen semillas después de ser fecundadas, por lo tanto, dichas estructuras son un cigoto que dan origen a un embrión.

La división celular queda restringida a ciertas zonas del embrión, a saber, los ápices del tallo y raíz (González, 2019).

Como se mencionó anteriormente, la función principal de los meristemos es la división celular ordenada, la cual tiene como consecuencia la formación de células somáticas, es decir, el desarrollo del cuerpo de la planta, así como, los patrones de crecimiento de los órganos. Lo anterior confiere sentido a la ubicación de las multicitadas zonas en las regiones terminales.

2.3.5 Meristemos apicales

Los meristemos apicales se encargan de la formación del eje principal de las plantas, del cual, se originarán posteriormente los diferentes órganos de estas, dichos meristemos se encuentran en las regiones apicales de tallos y raíces. Los meristemos

apicales, también llamados, conos vegetativos se encuentran cubiertos por primordios foliares que al envolver dichas zonas constituyen las yemas.

Por otra parte, el meristemo presente en la raíz se encuentra protegido por una estructura denominada caliptra. Dicha estructura protege al meristemo de daños mecánicos causados por el suelo, gracias a tal característica suele llamarse meristemo subapical, las raíces laterales se originan a partir de zonas ya diferenciadas. (Arbo 2016)

Las células de los meristemos primarios, en comparación con las del resto de la planta, son pequeñas, isodiamétricas y no existe espacio entre ellas, asimismo, su pared se encuentra formada sólo por celulosa y compuestos pépticos. Las estructuras internas cuentan con características como un protoplasto denso con retículo endoplásmico poco desarrollado, en contraste, se puede encontrar una gran cantidad de ribosomas y dictiosomas, mitocondrias y núcleos voluminosos ubicados generalmente en la zona central de las células, las cuales, generalmente cuentan con una cantidad reducida de vacuolas, de dimensiones reducidas.

Los meristemos del tallo, por otra parte, tiene forma variable, por ejemplo, en coníferas, éste se encuentra generalmente como un cono reducido, mientras que, en el caso del género *Cycas*, es común encontrarlos en disposición ancha y plana. Todos los meristemos ubicados en el ápice presentan células precursoras, las cuales se caracterizan por dividirse a partir de una célula inicial que se deriva en células hijas, las cuales culminan en células derivadas, de esta manera, el meristemo (Figura 2) asegura su autoperpetuación y las células iniciales siempre permanecen constantes. Las células precursoras persisten en el meristemo y se dividen espaciadamente, por lo tanto, las células derivadas se dividen de manera activa, produciendo células que se diferenciarán posteriormente teniendo como consecuencia el cuerpo y órganos de

la planta. El cúmulo de células precursoras y las primeras células derivadas es conocido como protomeristemo (Arbo 2016).



Figura 2. Micrografía óptica de meristemo apical de Coleus que muestra: 1) túnica; 2) células madre centrales; 3) médula del meristemo.

Imagen tomada de:

<http://www.sbs.utexas.edu/mauseth/weblab/webchap3par/3.2-4.htm>

2.3.6 Meristemos Radicales

Por otra parte, en el meristemo radical se reconocen estructuras de protección como la caliptra, la cual protege a las células de los daños mecánicos que puedan sufrir en el suelo, el meristemo, mismo que se localiza en la región central por encima de la caliptra, se denomina subapical. Las regiones circundantes a dicho sitio se diferencian en meristemos derivados, a saber, la protodermis, el procámbium y el meristemo fundamental, de los cuales se deriva la rizodermis, el eje central y el córtex, respectivamente.

En el meristemo apical de Pteridofitas, por ejemplo, se puede observar una célula inicial en forma piramidal, misma que cuenta con una cara basal, desde la cual se producen las células de la caliptra, mientras que, en las caras restantes, se producen las células que se diferenciarán en tejido del cuerpo de la raíz. Dicha célula se divide de manera cíclica con una duración que va desde las 12 hasta las 37 horas en función de la especie (Arbo 2016).

En algunas Pteridofitas y en todas las Espermatofitas, los meristemos radicales son multicelulares y pueden ser abiertos o cerrados, en otras palabras, cuando el meristemo es abierto todas las partes de la raíz se formarán a partir de un mismo cúmulo de células, como es el caso de la cebolla. (Arbo 2016).

Por otra parte, en el caso de los meristemos abiertos, la caliptra presenta una región central llamada columela, donde las células se ordenan en filas, como es el caso de los pinos.

En todas las Gramineae, el meristemo apical de raíz es cerrado (Figura 3), cuentan con una capa bien definida de la pared celular formada por polisacáridos que separa a la caliptra del resto de los tejidos (Clark y Fisher 1986). Asimismo, se pueden encontrar tres grupos de células iniciales: 1) las que originan la caliptra, 2) la rizodermis y el córtex y 3) el eje central. En este caso, se puede distinguir al primer grupo como una región “caliptrógena” debido a que origina únicamente al tejido de la caliptra.

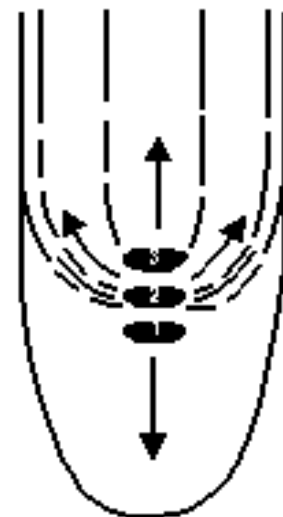
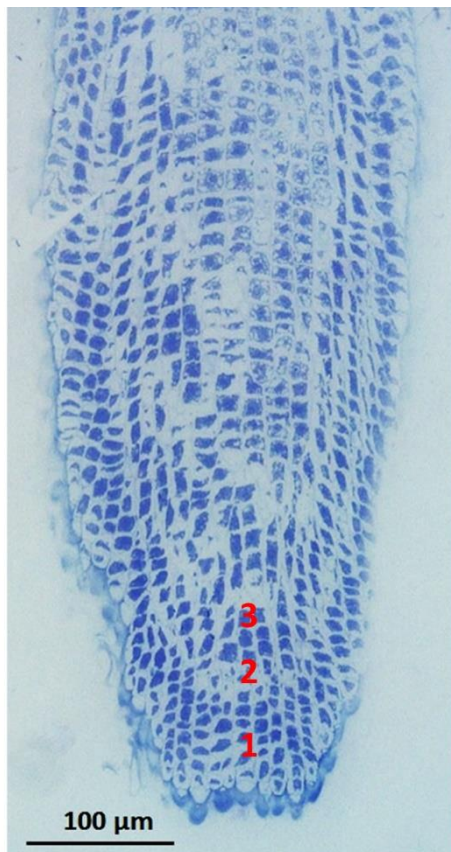


Figura 3. Micrografía óptica de Meristemo radical de Zea mays. 1) células de la caliptra; 2) rizodermis y córtex; 3) cilindro central.

Imagen obtenida en el Laboratorio de Nanobiología Celular. Facultad de Ciencias, UNAM.

2.4 Células: unidades estructurales fundamentales de la vida

Los seres vivos se clasifican, de forma general, en tres grandes dominios propuestos por Woese en 1977, quien a partir de datos obtenidos en la secuenciación de ácido ribonucleico ribosómico (rRNA), distinguió la división entre bacterias, arqueas y eucariontes, divisiones que, pueden verse esencialmente como: células sin núcleo y células con núcleo, respectivamente. Esta diferencia adjudica a las células la capacidad de compartimentalizar el material genético. Los organismos multicelulares están formados por billones de estas estructuras fundamentales para los seres vivos, en contraste, los organismos unicelulares, como su nombre lo sugiere, están formados por una sola célula, es decir, todos los seres vivos están compuestos por células (Schleiden y Schwann, 1839), mismas que sólo pueden provenir de una célula ya existente (Virchow, 1855).

Cabe mencionar que las células no son idénticas entre sí, varían en formas, tamaños y capacidades, toda vez que existen células altamente especializadas como las neuronas y espermatozoides capaces de transmitir información eléctrica o transportar información genética empleando diferentes estrategias y arreglos estructurales para lograr su cometido.

De la misma manera, existen células con necesidades fisiológicas tan distintas y especializadas, que la presencia de ciertos compuestos en el medio, como el oxígeno, pueden representar la sobrevivencia o la muerte de éstas. Como se mencionó anteriormente, existen células procariotas y eucariotas, por una parte, las células procariotas, como las bacterias, constan de un sólo compartimiento rodeado por una membrana plasmática, su principal característica es la ausencia de un núcleo

y una organización sencilla en comparación con las células eucariotas, las cuales cuentan con un núcleo definido con compartimentos internos rodeados por una membrana, de la misma forma que el resto de los organelos contenidos en el citoplasma; las plantas, animales y hongos, son ejemplos muy comunes de organismos con dicha organización celular. (Woese et al. 1990)

2.4.1 Nucléolo celular

El nucléolo es un organelo con una gran cantidad de compartimentos y es altamente dinámico (Segura-Valdez et al. 2006); se sabe que la síntesis de ribosomas se lleva a cabo en el nucléolo, asimismo, estudios recientes han planteado la participación de dicho organelo celular en la biogénesis de ribonucleoproteínas (RNPs), la regulación del ciclo celular y el posible uso de los mismos como marcadores de la actividad transcripcional. Autores como Thiry y Lafontaine han propuesto que la longitud de las unidades transcripcionales del rDNA en comparación con las distancias intergénicas, guardan una aparente relación con la transición de dos a tres compartimentos nucleolares, dichos subcomponentes o compartimentos se conocen como componentes fibrilares (FC), componente fibrilar denso (DFC) y componente granular (GC).

Por otra parte, se ha descrito la naturaleza bipartita del nucléolo en un gran número de organismos eucariotas, asimismo se ha propuesto que la transición de dos a tres subcomponentes nucleolares es una adquisición reciente en la evolución, proponiendo un cladograma (figura 4) donde se categorizan diferentes grupos de organismos con base en la presencia o ausencia de FCs, es decir, en células con

nucléolos bipartitas y tripartitas, donde se observa al grupo de las plantas verdes en la categoría bipartita.

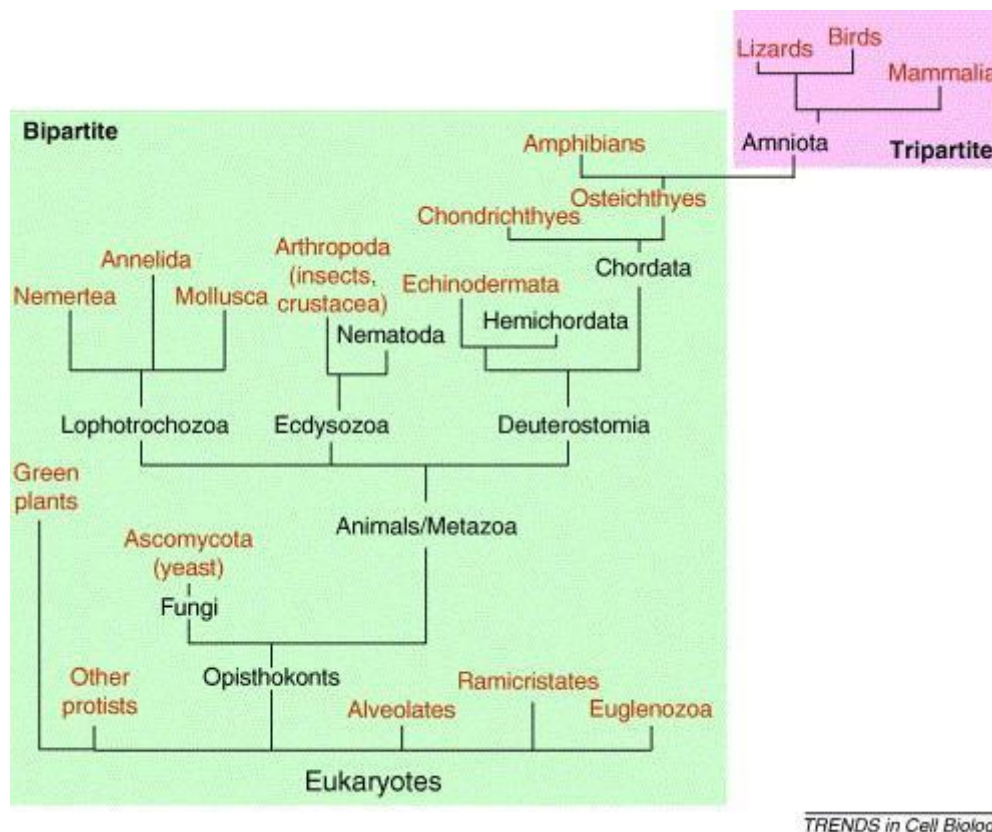


Figura 4. Cladograma basado en la Ccompartimentalización del nucléolo a través de la evolución propuesta en el artículo "Birth of a nucleolus: the evolution of nucleolar compartments." de Thyry y Lafontaine, 2005.

En contraste, con relación a los centros fibrilares, autores como Risueño et al. (1982) han propuesto la existencia de FCs homogéneos y heterogéneos. Los FCs homogéneos han sido descritos como fibras medianamente densas en imágenes con bajos aumentos. En contraparte, es decir, en imágenes con aumentos altos, se describen como fragmentos dispersos de fibras o manchas que oscilan entre los 8 y 11 nm rodeados por material menos denso.

Por otra parte, los FCs heterogéneos, a bajos aumentos, fueron descritos como un número variable de núcleos entremezclados con material fibroso poco denso y con un tamaño de núcleos que oscila entre los 16 y 22 nm; mientras que, en imágenes

con aumentos altos, dichos núcleos se observan como fibras densamente empaquetadas y el resto es idéntico a lo descrito en los FCs homogéneos.

Se considera que dicha descripción podría significar la diferencia entre reconocer o no, los FCs, así como observar la naturaleza bipartita o tripartita, según sea el caso, de manera errónea.

Asimismo, autores como Stępiński en el 2010, han propuesto que los componentes nucleolares están relacionados con la actividad transcripcional de las células, presentando variaciones en la forma o tamaño, es decir, cuando la actividad transcripcional es alta, el número de FCs y DFCs aumenta significativamente sin un cambio de tamaño aparente de los FCs, por otra parte, cuando la actividad transcripcional es baja, sólo se observa variación en el tamaño de los DFCs.

2.4.2 Compartimentalización nucleolar

El nucléolo puede ser utilizado como un organelo celular modelo, cuya organización en compartimientos puede dar paso a correlaciones entre funciones definidas asociadas con la biosíntesis de ribosomas. El confinamiento de los mecanismos involucrados en la biosíntesis de ribonucleoproteínas en territorios nucleolares determina los sitios donde se llevarán a cabo los pasos sucesivos en la biosíntesis de ribosomas. Las dinámicas integrativas de la transcripción del rDNA, el procesamiento del pre-RNA y el ensamble de subunidades ribosómicas, confieren al nucléolo, su organización.

A pesar de que los anteriores eventos cuentan con un nivel de organización alto, ocurren en espacios y tiempos distintos, en el nucléolo de las plantas (Shaw et al. 1995), la transcripción del rDNA y el procesamiento del pre-RNA, probablemente

ocurra de manera simultánea en levaduras (Schneider et al. 2007), con base en lo anterior, se ha sugerido una asociación transitoria entre componentes funcionalmente relacionados, mismos que se encuentran involucrados en síntesis de nucléolos cuya compartimentalización está morfológicamente bien definida (Hernández-Verdun, 2006).

Por otra parte, en células diferenciadas como las neuronas, donde el nucléolo se encuentra presente en todo momento, las interacciones no transitorias (permanentes) entre componentes nucleolares, probablemente ocurran (Hernández-Verdun 2006).

2.4.3 Centros Fibrilares (FC)

El centro fibrilar es un subcompartimiento nucleolar que puede ser observado utilizando técnicas de microscopía electrónica, dicho componente se presenta como una zona poco teñida con formas y tamaños variables embebida en el DFC (componente fibrilar denso), dicho arreglo es más evidente en células vegetales. Esto puede ser de interés en el estudio del nucléolo, ya que se ha planteado una organización distinta en organismos cordados, en los cuales no se ha evidenciado la presencia de FCs (centros fibrilares), teniendo como consecuencia una división basada en el número de subcomponentes observados, es decir, nucléolos bipartitas y tripartitas, lo que significa, en términos evolutivos, que la naturaleza tripartita es un carácter reciente (Thiry et al. 2011).

En el nucléolo de células meristemáticas de plantas, se pueden distinguir dos tipos de FCs: los FCs homogéneos y FCs heterogéneos. En los FCs homogéneos, sólo se puede localizar cromatina laxa, en contraste, en los FCs heterogéneos, puede

encontrarse cromatina laxa y condensada (Risueño et al. 1982). Los FCs homogéneos que presentan cromatina no nucleosómica, pueden presentarse en dos estados estructuralmente indistinguibles: transcripcionalmente activos y desactivados (Derenzini et al. 2006), sin embargo, esto puede variar entre diferentes especies de plantas. Se cree también que la presencia de alguno de estos FCs depende de la actividad transcripcional del nucléolo, los FCs heterogéneos, por ejemplo, son característicos en los nucléolos con actividad reducida, especialmente, en células latentes (Risueño et al. 1982).

Por otra parte, la actividad nucleolar también determina el tamaño de los FCs, la actividad transcripcional, los nucléolos con alta actividad poseen una gran cantidad de FCs pequeños, mientras que los nucleolos con baja actividad poseen FCs grandes y en menor proporción (Risueño et al. 1982), cabe mencionar que lo anterior no es una regla universal y las características mencionadas pueden variar entre especies. Se ha propuesto que el número y tamaño de los FCs está correlacionado con las fases del ciclo celular, por ejemplo en la fase G1, es común encontrar bajas cantidades de FCs, alrededor de la mitad de los presentes en la fase G2 (Grummt 2003; González-Camacho y Medina 2006).

Retomando la naturaleza heterogénea y homogénea de los FCs, se ha observado que los FCs heterogéneos también están presentes en nucleolos que se encuentran entrando en la fase de mitosis, específicamente en la profase tardía, así como, al salir de la telofase (Moreno-Díaz de la Espina et al. 1980).

2.4.4 Componente fibrilar denso (DFC)

El dominio nucleolar, al ser más denso que los FC, se distingue como una zona más oscura cuando se observa al microscopio electrónico de transmisión. El DFC está compuesto por fibras generalmente cortas producto de los genes ribosómicos (Shaw et al. 1998).

En el nucléolo de plantas, el DFC se establece en una región mayor en las áreas nucleolares, ocupando entre el 40 y 70% de ellos (Shaw y Jordan 1995; Stępiński 2010). Por otra parte, en animales, esta región se encuentra reducida a una delgada capa, probablemente esto se deba a una menor cantidad y actividad de los genes ribosómicos. Desde el punto de vista ultraestructural, dicha región se observa como una estructura bien organizada y homogénea, mientras que, desde el punto de vista funcional, el procesamiento del pre-rRNA también se subcompartimentaliza. En dichos subcompartimientos se llevan a cabo pasos específicos importantes para la maduración del pre-rRNA, ya que los diferentes intermediarios de maduración están presentes en dichos subdominios de los DFCs (Lazdins et al. 1997; De Cárcer y Medina 1999).

En el DFC se inician los pasos del procesamiento y modificaciones del rRNA, los sucesos posteriores al procesamiento y modificaciones también se llevan a cabo en el DFC en función de la distancia FC-DFC (Shaw et al. 1995; Brown y Shaw 1998).

Por otra parte, una proteína nucleolar importante para la maduración del pre-rRNA es la fibrilarina, misma que constituye parte de la caja C/D del snoRNAs que se encuentra en los nodos terminales resultantes de la transcripción del RNA en el extremo 5' (Mougey et al. 1993; Fatica et al. 2000; Gerbi et al. 2003). Dicha proteína actúa directamente en la metilación de la 2'-O-ribosa del pre-RNA, y se piensa, es

parte del complejo que participa en las divisiones celulares tempranas, así como, en el ensamble de ribosomas (Herniquez et al. 1990; Sáez-Vásquez et al. 2004).

La fibrilarina, como ya se mencionó, es una proteína importante en diferentes procesos esenciales en la célula, presenta una estructura altamente conservada y multifuncional que no está limitada únicamente a la biosíntesis de ribosomas. Se ha observado que esta proteína también está involucrada en las primeras etapas de división celular durante el desarrollo del embrión de ratón (Newton et al. 2003).

Los DFCs junto con los FCs, se asocian estrechamente, estructural y funcionalmente con el nucleonema, estructura que no siempre se describe, sin embargo, el nucleonema se ha considerado actualmente, como la estructura nucleolar fundamental. El nucleonema está compuesto por fibras con arreglos similares a un hilo, dicha estructura es sobresaliente en los nucléolos y, generalmente, es característica de las plantas superiores, en contraste con las células animales, en las cuales, resulta sumamente difícil distinguir dicha estructura, esto probablemente se deba a la pequeña cantidad de DFCs, sin embargo, el nucleonema es claramente visible en nucléolos reticulados de células animales tempranas (Deltour y Motte 1990).

Por otra parte, desde el punto de vista morfológico, el nucleonema se encuentra organizado en tándems de unidades estructurales, los cuales, a su vez, forman un complejo radial de componentes nucleolares, a saber, FCs de cromatina condensada, en los cuales también se observa material fibroso menos denso en la zona periférica, mismo que se cree, está formado por proteínas nucleolares entremezcladas con hebras de cromatina (Yano y Sato 2000; Sato et al. 2005).

La matriz del nucleonema puede ser observada y reconocida con microscopía electrónica de transmisión al contrastar la preparación con nitrato de plata, como una

forma esférica o un cilindro muy delgado similar a un botón con sitios claros (FCs) en cada dominio (Sato y Fujie 1997).

Las regiones que forman el nucleonema, los FCs y DFCs son subcompartimentos nucleolares de gran importancia ya que en ellos tienen lugar los pasos clave para la biosíntesis de ribosomas, la síntesis de pre-RNA y los procesos principales de la maduración del mismo.

2.4.5 Componente granular

El resto del área nucleolar se encuentra ocupada por partículas ribonucleoproteicas más o menos densas a los electrones, las cuales, tienen un tamaño entre 15 y 20 nm, mismas que corresponden a las subunidades pre-ribosomales que se encuentran en diferentes etapas del ensamblaje (Hernández-Verdun 2006). Aunado a lo anterior, entre las partículas ribosómicas presentes, el RNA nucleolar libre también puede generar un panorama formado por complejos granulares originados por otro tipo de proteínas diferentes a las involucradas en la producción de ribosomas.

2.5 Historia de la microscopía

Aproximadamente doce siglos antes del desarrollo de las civilizaciones mesoamericanas, mismas que domesticaron el maíz, la intención de observar objetos amplificados había aparecido. Dicha intención se remonta hasta las civilizaciones griega y romana, quienes empleaban esferas de vidrio llenas de agua para observar heridas y tejidos como la piel o la superficie de las hojas de los árboles, sin embargo, dichos instrumentos no podían alcanzar escalas menores.

Con el paso del tiempo, el perfeccionamiento de dichas herramientas dio paso a la invención de instrumentos con mayor resolución; los instrumentos utilizados para la ampliación de objetos han evolucionado a lo largo de los siglos, pasando, como ya se mencionó, de una esfera llena de agua a dispositivos tan sofisticados como los microscopios electrónicos que permiten observar desde la ultraestructura de las células de cualquier tejido, hasta columnas de átomos en un cristal (Cobos 2012)

2.5.1 Primeros instrumentos para amplificar imágenes

Los intentos de realizar observaciones amplificadas se remontan a las civilizaciones griega y romana, hacia el siglo II D.N.E, aproximadamente, quienes no tenían conocimiento del mundo microscópico que los rodeaba; no podía concebir-la idea de la existencia de seres vivos más pequeños que un sifonáptero (pulga), ya que todavía no se lograba el desarrollo de instrumentos capaces de ampliar los horizontes hacia un mundo, para entonces, inaccesible (Cobos 2012).

En vista de lo anterior, grandes pensadores de la época, como Euclides y Ptolomeo, comenzaron a implementar lentes en la observación de los astros, particularmente, éste último, culminó con la invención del astrolabio, mismo que fue adaptado posteriormente, como lo relataron Séneca y Plinio, a la observación de batallas por parte del emperador, quien observaba a través de esmeraldas talladas, las cuales, se cree, corregían las aberraciones de sus córneas (Cobos 2012).

A finales del siglo XVI, mientras las civilizaciones mesoamericanas caían ante los conquistadores españoles, mismos que exportaron el maíz y sus variantes provenientes del teocintle alrededor del mundo, en Europa, personajes como Leonardo Da Vinci, reiteraban en las ventajas de implementar el uso de lentes en la observación de objetos pequeños, tal como lo describió Giambattista Della Porta en su libro *Magia naturalis*.

Cabe mencionar que aún existe el debate acerca de la invención del microscopio, toda vez que, tanto el holandés Zacharias Jansen como el italiano Galileo Galilei diseñaron dispositivos muy similares, mismos que, básicamente, eran versiones inversas del telescopio creado por el alemán Hans Lippershey, que podía amplificar una imagen hasta diez veces (Cobos 2012)

2.5.2 Primer microscopio

La primera vez que se acuñó el término microscopio, fue en *Apiarium* una publicación realizada por Federico Cesi y Francesco Stelluti en 1625, donde reportaron la observación al microscopio de una abeja. Sin embargo, el trabajo más conocido y emblemático sobre microscopía fue *Micrographia* de Robert Hooke en 1663, ya que reportó observaciones de corcho y acuña el nombre de células a las pequeñas “celdas” que observó, asimismo, incluye dibujos muy detallados de insectos, semillas y cabellos, así como de objetos comunes como alfileres y telas, al igual que esquemas de su microscopio.

Sin embargo, a mediados del siglo XVII, también llamado el siglo de la física, Anton Van Leeuwenhoek, quien posteriormente fabricaría sus propios microscopios y puliría por sí mismo las poderosas lentes que implementaría en su instrumento, en la ciudad de Delft, Holanda, modificó el diseño vigente en el año de 1674, lo cual confirió mejoras al microscopio simple, lo que le permitió la observación de objetos aumentados aproximadamente 480 veces su tamaño original, como la carne de ballenas, escamas, y diferentes tipos de pelaje de animales, además de fluidos corporales y cabezas de moscas, observando un mundo completamente desconocido, describiendo, por ejemplo, protozoarios a los que nombró como “animálculos”, bacterias y espermatozoides humanos. Este microscopio cobró tal relevancia, que reyes y reinas viajaban hasta Delf para poder observar a través de los instrumentos de aquel vendedor de telas holandés (Cobos 2012).

2.5.3 Microscopio óptico (MO)

Los primeros microscopios ópticos no eran perfectos, la aberración cromática volvía difícil las observaciones a detalle de las muestras, debido a que dicho defecto descompone la luz blanca, dando como resultado halos de colores alrededor de los objetos observados.

Por lo anterior, cerca del año 1820, Joseph Jackson, un óptico inglés, diseñó un microscopio capaz de eliminar dicho defecto: el microscopio acromático, iniciando así con el perfeccionamiento de los mismos hasta llegar a los microscopios modernos. Los microscopios ópticos, en la actualidad, están constituidos en general, por un sistema óptico y uno mecánico, dichos sistemas trabajan en conjunto para formar imágenes nítidas, Ernst Abbe, en 1873, propuso la fórmula que describe matemáticamente la resolución, definida como:

$$r = k \frac{\lambda}{n(\sin \alpha)}$$

misma que se entiende como la capacidad de un instrumento óptico para discernir entre dos puntos. Con base en lo anterior, es posible ejemplificar el cálculo del poder de resolución de un microscopio óptico: se sabe que la longitud de onda (λ) de la luz verde es de 0.5 micrómetros; se supone que el resultado de multiplicar el índice de refracción (n) por el ángulo de apertura ($\sin \alpha$) de una lente es igual a 1.4, por lo tanto, al sustituir dichos valores, el poder de resolución es de, aproximadamente, 0.2 micrómetros o 200 nm, (es decir, un microscopio con dichas características, es capaz de discriminar dos puntos separados 200 nm entre sí), de manera que, mientras más pequeño sea el valor de r el poder de resolución es más grande y, en consecuencia, es posible observar objetos más pequeños, sin embargo, reducir dicho valor en la

microscopía óptica no ha representado un cambio significativo en el poder de resolución, debido a que la longitud de onda de la luz violeta (longitud de onda visible más corta) es de 0.4 micrómetros, lo cual representa un aumento muy pequeño, sin embargo, si aumentamos el valor del denominador de dicha ecuación, necesitamos aumentar el diámetro de las lentes, y/o reducir la distancia focal, esta última entendida como la distancia entre el centro de la lente (centro óptico) y el lugar donde convergen todos los rayos de luz que la atraviesan (foco), lo cual tendría como consecuencia un incremento en el ángulo α de la ecuación.

Los lentes empleados en los microscopios de la actualidad se han perfeccionado con la finalidad de eliminar las aberraciones arriba mencionadas, y las distancias focales se han reducido de manera significativa, sin embargo, la apertura numérica se ha aumentado muy poco, por lo que, para ampliar el poder de resolución de manera significativa, fue necesario cambiar el tipo de radiación utilizada para formar imágenes, pasando del uso de fotones (luz), al empleo de electrones, como es el caso del microscopio electrónico de transmisión (TEM).

2.5.4 Microscopio electrónico de transmisión (TEM)

Como se mencionó al final del apartado anterior, para generar imágenes con mayor resolución, fue necesario cambiar el tipo de radiación. En 1924, el físico francés Louis de Broglie formuló su hipótesis sobre la dualidad de la materia basándose en el efecto fotoeléctrico propuesto anteriormente por Albert Einstein, quien sugería la naturaleza

cuántica de la luz; bases que sirvieron posteriormente para dejar atrás a los fotones y dar paso a los electrones.

Los electrones son acelerados gracias a diferencias de potencial, oscilando, generalmente, entre 50,000 y 120,000 voltios. Como es natural suponer, mientras mayor sea el voltaje de aceleración, mayor será la velocidad de los electrones, los cuales, bajo voltajes muy altos, por ejemplo, 100 kilovoltios (kv) alcanzan más de la mitad de la velocidad de la luz (Vázquez-Nin y Echeverría 2000).

Con base en la ecuación de De Broglie, la longitud de onda de dichos electrones acelerados es igual a la constante de Planck entre el producto de la masa por la velocidad de los electrones, expresada matemáticamente como:

$$\lambda = \frac{h}{mv}$$

por lo tanto, la longitud de onda del haz de electrones disminuye al aumentar la velocidad.

Con un potencial de aceleración de 100 kv, la longitud de onda resultante es aproximadamente de 0.0037 nm, alrededor de 100000 veces menor que la luz visible, que va desde los 400 hasta los 700 nm.

Por lo anterior, se puede determinar que el TEM emplea una radiación con longitud de onda 100000 veces menor que la utilizada en microscopía de luz, lo cual, disminuye el numerador en la ecuación de Abbe y, consecuentemente, el cociente, obteniendo, así, mayor poder de resolución.

Dichos instrumentos están formados por cuatro componentes principales: una columna óptica, sistemas de vacío, sistemas de alimentación de alto voltaje y actualmente, “software” especializado para el control y obtención de micrográficas.

A lo largo de la columna óptica, desde el generador de electrones hasta la pantalla, pasando por el porta muestras, existe un vacío de aproximadamente 10^{-11} tor. Dicho vacío es importante debido a que, sin él, los electrones acelerados interaccionarían con las partículas del aire, ocasionando choques no elásticos, resultando en aberraciones y mala calidad en las imágenes. Cabe mencionar que, dicho orden de magnitud puede variar de un microscopio a otro.

Se debe agregar que, la mencionada fuente de radiación (electrones) está formada por un filamento de tungsteno que se encuentra dentro de la columna, el cual, al ser calentado, genera una nube de electrones que puede acelerarse, como se menciona anteriormente, gracias a diferencias de potenciales entre el ánodo y el cátodo, asimismo, se pueden encontrar dentro de dicho sistema, bobinas generadoras de campos magnéticos, mismas que cumplen la función de lentes, de forma similar a las de vidrio encontradas en un microscopio óptico como se observa en la figura 5.

La microscopía electrónica tiene una gran cantidad de aplicaciones, desde la física de materiales hasta la observación de la ultraestructura celular ya que permite obtener información sobre las diversas propiedades de las muestras a nanoescala.

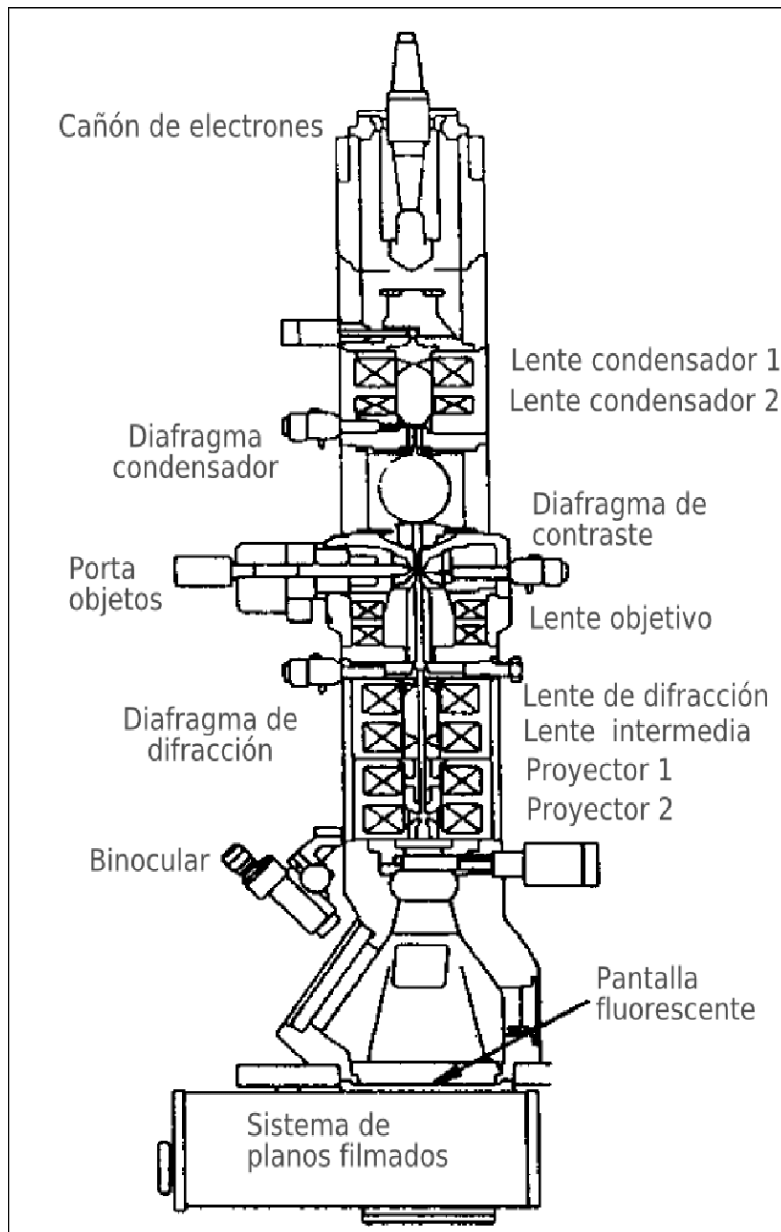


Figura 5. Ruiz, A. (2014) Esquema de un microscopio Electrónico de Transmisión. [Esquema]. Recuperado de: https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Esquema-de-un-microscopio-electronico-de-transmision_fig26_291350809

2.5.5 Microscopio de fuerza atómica (AFM)

El microscopio de fuerza atómica, (AFM, por sus siglas en inglés: Atomic Force Microscopy), es un instrumento mecano-óptico, sensible a fuerzas tan pequeñas como los nanonewtons. Al analizar la muestra de interés con ayuda de una punta o sonda es posible obtener información sobre la topografía, debido a que dicha punta “barre” la superficie y registra los cambios en la altura, toda vez que dicha punta se encuentra acoplada a un “o palanca sobre la cual incide un haz de luz (láser) que es reflejado hacia un detector piezoeléctrico que envía la información recabada hacia un “software” encargado de interpretar los cambios de posición del láser con respecto de los ejes x, y, y z con el fin de formar imágenes, a diferencia del TEM, la formación de imágenes es posible gracias a la interpretación generada por un “software” y no por el uso de fuentes de radiación que naturalmente involucran longitudes de onda, mismas que definen la resolución del instrumento, como se mencionó previamente.

Lo anterior, es el motivo por el cual se considera al AFM como un instrumento mecano-óptico; al emplear una sonda que, en teoría, posee el grosor de un átomo en la punta, la resolución del instrumento, en condiciones óptimas, es menor a 1 nm, alcanzando a formar imágenes de cada átomo de la muestra, contituyendo las mismas empleando las fuerzas de repulsión y de Wan der Waals.

3. Hipótesis

La estructura general del nucléolo se ha descrito, en otras especies de plantas, como un compartimento con tres componentes ultraestructurales, por lo tanto, el nucléolo en células radicales de teocintle contendrá los mismos elementos.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Identificar los componentes nucleolares de las células de meristemos apicales del teocintle.

4.1.2 Objetivos Particulares

- Determinar la naturaleza bipartita o tripartita de los nucléolos de teocintle
- Determinar si los nucléolos de teocintle presentan centros fibrilares, componente fibrilar denso y componente granular.
- Comparar el tamaño de ribosomas presentes en nucléolo y citoplasma

5. Metodología

El material biológico utilizado para la realización de la presente se obtuvo gracias a la donación de 80 semillas de teocintle (*Zea perennis*); mismas que fueron tratadas con agua oxigenada al 50% con el objetivo de iniciar el proceso de germinación, debido a que la testa de dichas semillas resulta, en cierta medida, impermeable.

Se sabe que el agua oxigenada cuenta con características corrosivas, mismas que degradan la gruesa cubierta y, en consecuencia, la entrada de agua al embrión es posible. Transcurridas 24 horas, se colocaron en 10 vasos de plástico con solución inerte para hidroponía aproximadamente 72 horas con el objetivo de dejar crecer los tejidos.

Posteriormente, se colectaron los tejidos observados en la semilla (raíz y tallo) y se procesaron con métodos de fijación estándar para microscopía electrónica, para obtener posteriormente, cortes semi y ultrafinos de los tejidos, mismos que se contrastaron y observaron al microscopio electrónico de transmisión ver figura 6.

5.1 Germinación

Para obtener muestras del meristemo apical de la raíz de teocintle, se germinaron semillas como se describe a continuación: Se colocaron 10 semillas en un vaso de precipitados de 10 mL con agua oxigenada al 50% durante 24 horas con la finalidad de degradar la testa de las semillas y permitir la entrada de agua al embrión.

Transcurridas las 24 horas anteriormente señaladas, se colocaron 10 semillas en 10 recipientes de plástico de forma individual con fibra absorbente que suministraba solución inerte para hidroponía de manera constante.

Pasadas 72 horas, aproximadamente, se observó crecimiento primario en las semillas, y en este punto se procedió a realizar cortes de raíz y tallo.

5.1.2 Procesamiento de muestras

Finalizada la disección del material biológico, se procesó con técnicas convencionales para microscopía electrónica de transmisión (Segura-Valdez et al. 2006) la cual inició con la fijación, colocando los cortes de raíz durante 90 minutos en tubos de microcentrífuga mismos que contenían una solución de glutaraldehído al 6% + paraformaldehído al 4% en amortiguador fosfato salino (PBS) con un pH de 7.4.

Posteriormente se realizaron 5 lavados con duración de 5 minutos cada uno con agua milli-q y se procedió a realizar la post fijación con tetraóxido de osmio (OsO_4) al 1% durante 1 hora. Posteriormente la deshidratación se realizó en orden ascendente en soluciones de etanol de concentración (30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 96%) durante 10 min en cada solución hasta llegar a tres cambios de 5 minutos cada uno en solución al 100% de alcohol etílico. Posteriormente, se agregó a las muestras 10ml de óxido de propileno, realizando 3 cambios de 5 minutos cada uno. Al finalizar, por tratarse de tejidos vegetales, se procedió a realizar una preinclusión lenta con mezclas de óxido de propileno y resina epóxica, iniciando con una proporción 2:1 (óxido de propileno/epón) durante 24 horas a temperatura ambiente, transcurrido dicho periodo, los tejidos se colocaron en una concentración 1:1 durante 70 horas aproximadamente, finalizando en una concentración 1:2 durante 24 horas.

Al término de las 24 horas antes mencionadas, los tejidos se incluyeron en moldes con resina epóxica pura, dejando polimerizar la misma durante 48 horas a 60°C. Todo el proceso se esquematiza en la figura 6.

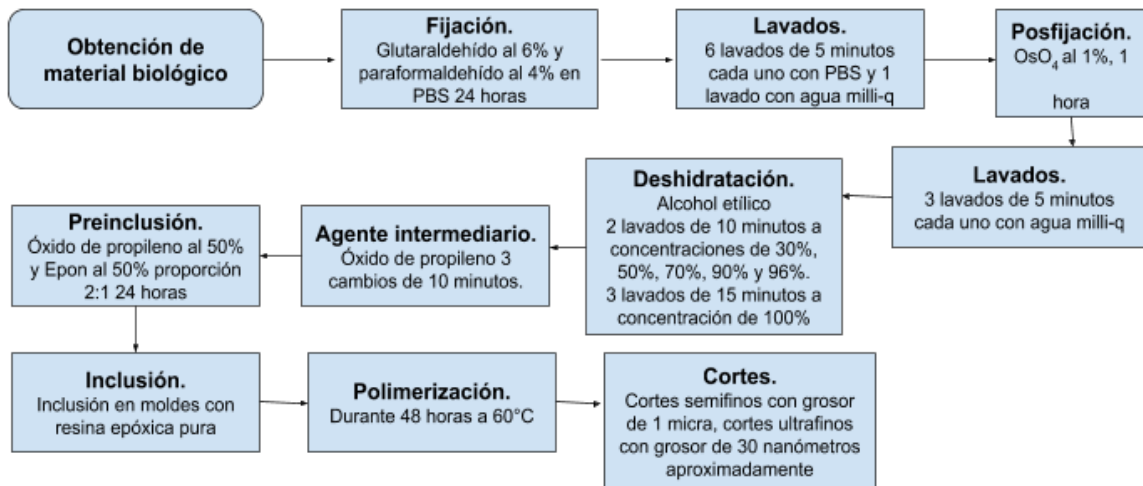


Figura 6. Diagrama de flujo del procesamiento de material biológico para microscopía electrónica de transmisión (TEM) convencional.

5.1.3 Cortes semifinos y ultrafinos

Es necesario realizar cortes de las muestras para poder obtener imágenes, por lo tanto, al finalizar la polimerización de los bloques, se tomó un bloque de forma arbitraria, previo al corte, se colocó bajo el microscopio estereoscópico y se delimitó la cara de corte, eliminando el exceso de resina alrededor del tejido incluido, formando una pequeña pirámide trunca o meseta con ayuda de una navaja para afeitar.

Posteriormente, la mordaza con el bloque se colocó en un ultramicrotomo (Leica Ultracut R y MT2); con una cuchilla de vidrio ajustada a 4° de inclinación: Se tuvo cuidado de ajustar los valores de orientación en 0° para obtener la menor variación posible en cortes futuros.

Para el caso de los cortes semifinos, se establecieron valores de 250 nm en el equipo y se acercó la cuchilla con el avance milimétrico al bloque, siempre observando a través del microscopio estereoscópico; cuando la cuchilla se encuentra lo suficientemente cerca del bloque se detiene el avance manual y se comienza el avance automático realizado por el equipo. Cabe mencionar que dicho avance es térmico y de alta precisión, por ejemplo, si el grosor requerido es de 50 nm, el equipo deberá avanzar el brazo que sostiene a la mordaza 0.05 μm en cada ciclo (Vázquez-Nin y Echeverría 2000).

El proceso anterior tiene como resultado la obtención de pequeños cortes de resina que contienen el tejido de interés. A pesar de que el grosor fue determinado en el equipo, éste puede diferir, de tal manera que el grosor verdadero está dado por el color de interferencia resultante de la incidencia de luz blanca y el reflejo de esta. En otras palabras, el color del corte se debe a que una parte del haz se refleja en la superficie entre el corte y el aire y otra parte, entre el agua y el corte; al variar el grosor

de los cortes la distancia entre superficies también cambia y, por lo tanto, las interferencias entre los rayos reflejados son observadas como colores distintos (Peachey, L. 1958).

Dichos cortes son tomados en una gota de agua, por efectos de capilaridad con un asa de cobre circular. Los cortes se colocan sobre un portaobjetos de vidrio y se exponen al fuego de una lámpara de alcohol durante unos segundos hasta que el agua se evapora. Seguidamente se coloca una gota de azul de toluidina sobre los cortes con ayuda de un gotero y se calienta nuevamente hasta observar un halo verde que rodea dicha gota, se retira el exceso de colorante con agua y se observa al microscopio óptico con la finalidad de identificar y delimitar el área a cortar, así como realizar una nueva pirámide más pequeña que la anterior, es decir, una nueva cara que contenga la porción de muestra de mayor interés

Para el caso de los cortes ultrafinos, se repite el procedimiento anterior con las variantes necesarias para este caso, es decir: se establecen valores de entre 30 y 50 nm de grosor, mismo que se confirma con cortes color plata ver figura 7 los cuales son recogidos con una rejilla de cobre (portaobjetos) en forma de disco de 3 mm de diámetro.

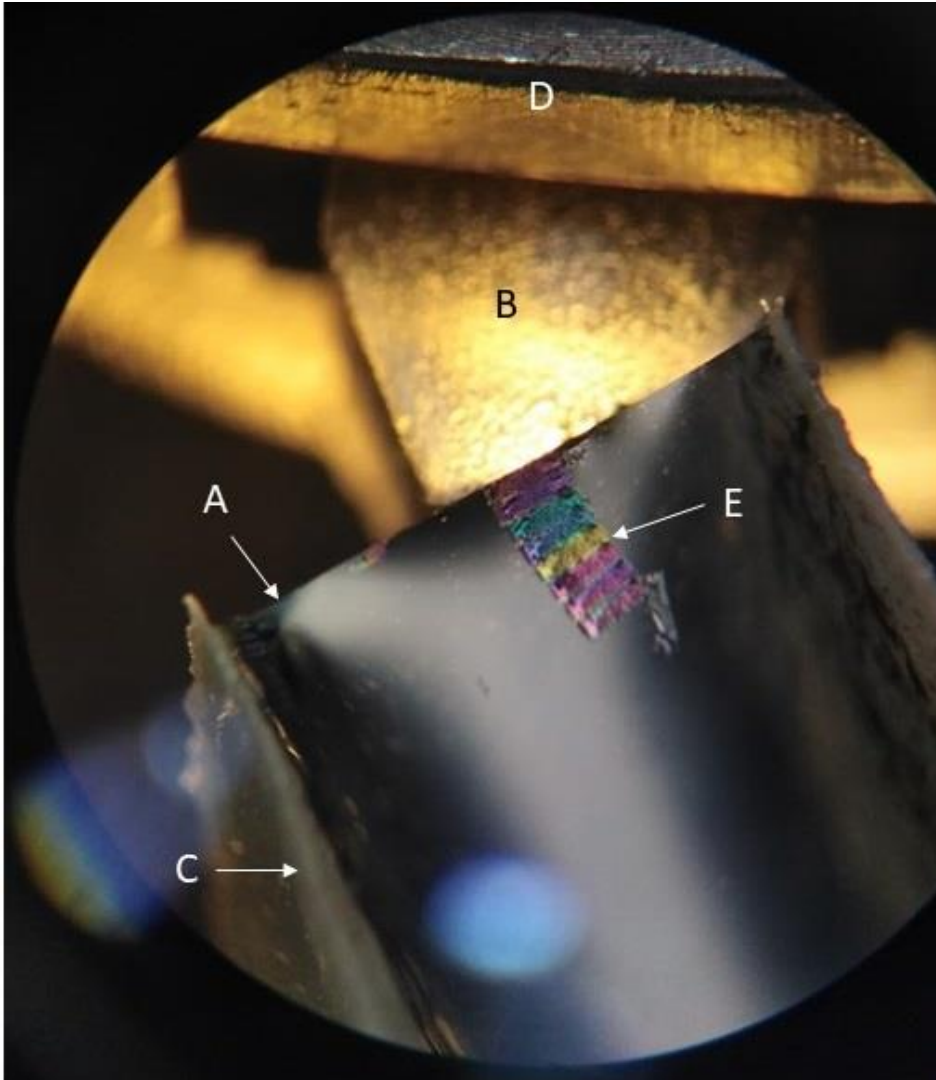


Figura 7. Cortes semifinos de diferentes grosores sobre la superficie del agua contenida en la barquilla. A) Cuchilla de vidrio, B) Bloque de resina con tejido, C) Barquilla de cinta adhesiva contenedora de agua, D) Mordaza de ultramicrotomo, E) Cortes de diferente grosor, lo cual influye en el color.

5.1.4 Contraste

Una vez obtenidos los cortes ultrafinos se realizó el contraste de los tejidos, para ello se emplearon compuestos químicos con un número atómico alto y poca capacidad de ionización, es decir, se utilizaron sales como el acetato de uranilo y el citrato de plomo,

debido a que dichos compuestos se unen fácilmente a las proteínas y a los ácidos nucleicos presentes en las células sin importar que éstas se encuentren incluidas en resina.

Para lograr un contraste adecuado, con una micropipeta, se colocó una gota de acetato de uranilo al 4% en un papel parafilm contenido en una caja Petri y sobre la gota se coloca la rejilla de cobre con los cortes, durante 20 minutos. La caja de Petri está cubierta para evitar la entrada de la luz ya que ésta provoca la precipitación del compuesto, afectando directamente la calidad de las observaciones al microscopio electrónico.

Al finalizar este tiempo y después de enjuagar con agua desionizada, igual que el caso anterior, se colocó la rejilla con los cortes sobre una gota de citrato de plomo al 6% en una caja Petri distinta, durante 10 minutos. En esta caja se mantiene una atmósfera libre de CO₂ hojuelas de hidróxido de sodio, ya que al igual que la luz, el dióxido de carbono provoca la precipitación del citrato de plomo, afectando, como en el caso anterior la calidad de imagen al momento de observar. Al finalizar el tiempo, se procedió a enjuagar con agua desionizada.

Dicho proceso se realizó para cada rejilla cambiando el papel parafilm, el compuesto químico y las puntas de micropipeta para evitar precipitados en las muestras.

5.1.5 Observación

Las observaciones se realizaron con ayuda de un microscopio electrónico de transmisión de la marca Jeol modelo 1010 a diferentes aumentos, las imágenes se obtuvieron con ayuda una cámara Gatan de alta resolución instalada dentro de la columna del microscopio.

Para la obtención de imágenes se realizaron los siguientes pasos:

Se colocaron las rejillas previamente contrastadas en el portamuestras, mismo que se introdujo en la columna del microscopio. Colocar dicho portamuestras implica la entrada de una pequeña cantidad de aire a la columna; se dejó pasar un periodo de tiempo consistente en unos cuantos segundos hasta que se recuperara el vacío al interior de la columna. Al término, se hizo transitar una corriente eléctrica hacia el cañón con el fin de generar una nube de electrones, necesaria para el flujo de electrones desde el cañón hasta la pantalla, pasando, naturalmente, por la rejilla que portaba los cortes, lo cual permitió la observación de células y nucléolos.

5.1.6 Procesamiento de micrografías

Se obtuvieron micrografías de diferentes células con nucléolo, de las cuales, se obtuvo información sobre la ultraestructura. Para lograr lo anterior, se empleó el “software” ImageJ versión Fiji, debido a que es libre y cuenta con las características necesarias para obtener la información de interés, a saber: permite medir el perímetro de partículas y realizar conteos, entre otras cosas.

Para poder obtener la información de interés, se abrió una micrografía a la vez desde el mencionado “software”, las cuales contenían una barra con escala conocida,

misma que se tomó como referencia para calibrar los parámetros requeridos para una correcta medición. Posteriormente, se midieron 100 y 150 ribosomas de diferentes nucléolos, siendo 4 nucléolos diferentes de cortes distintos, es decir, en 2 nucléolos se midieron 150 ribosomas y en los 2 restantes se midió el perímetro de 100 pre-ribosomas, dando un total de 500 pre-ribosomas, se realizó el mismo procedimiento para los ribosomas ya ensamblados, es decir, para los ribosomas que se encuentran fuera del nucléolo.

6. Resultados

Se observaron cortes de 10 bloques diferentes y se realizaron 100 mediciones en 10 células diferentes (las de mejor calidad y resolución) en las cuales, se pudo observar el núcleo, nucléolo, pared celular y plasmodesmos, principalmente. Una vez obtenidas las mediciones de las partículas presentes en el nucléolo y en citoplasma (un total de 1,000 partículas) se compararon realizando histogramas, en los cuales se pudo observar que la diferencia entre ambos grupos de partículas es prácticamente despreciable, variando en aproximadamente, 1 nm, es decir, no existe diferencia significativa, sin embargo, dicho resultado era el esperado ya que gracias a observaciones previas registradas en literatura, se ha determinado que el tamaño de los ribosomas y pre-ribosomas oscila entre los 15 y 20 nm.

En este caso, se observa que, en el primer cuartil, donde se encuentra el 25% de los datos, el tamaño de los pre-ribosomas se encuentra entre los 5 y 10 nm, con valores atípicos de 5.905 nm en el primer cuartil y 27.092nm, 27.823 nm y 28.438 nm en el tercer cuartil. Por otra parte, en el segundo cuartil, donde se observa la mayor cantidad de datos, es evidente que los mismos están poco dispersos. En el caso del

nucléolo, se evidencia que la mediana difiere de la moda y la media, sin embargo, dicha variación es mínima pero suficiente para determinar qué se trata de una asimetría positiva, ya que la media es mayor a la mediana y la moda.

Para el caso de los ribosomas presentes en citoplasma, existe una variación muy pequeña, resultando prácticamente en una distribución simétrica, ya que la media, mediana y moda son prácticamente iguales, con valores atípicos de 5.597 nm en el primer cuartil y 26.703 nm, 27.134 nm y 27.938 nm en el tercer cuartil (Fig. 5).

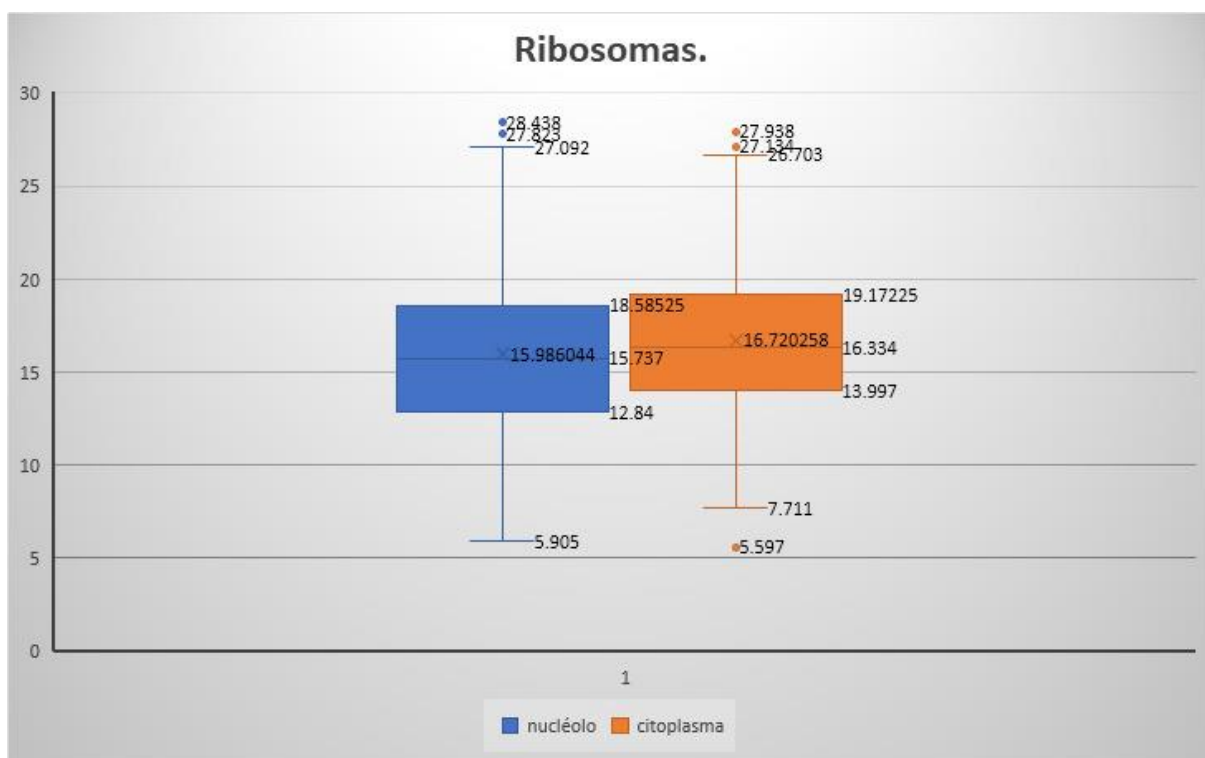


Figura 8. Histograma de caja y bigote donde se observa la mínima diferencia en el perímetro en nanómetros entre pre-ribosomas presentes en el nucléolo y ribosomas en el citoplasma, 18.58 nm y 19.17 nm, respectivamente.

En las siguientes figuras se observan células con núcleos reticulares y nucléolos centrales con zonas menos densas a los electrones con núcleos de cromatina. Con base en la literatura, la ultraestructura observada en dichos nucléolos

puede ser descrita como nucléolos bipartitos (Thiry y Lafontaine, 2005), en los que solo se observa el componente granular (CG) y el componente fibrilar denso (CFD).

Sin embargo, como puede apreciarse en estas imágenes, se observan zonas menos densas a los electrones (Figs. 9, 10 y 11; cabezas de flecha), que, con base en lo descrito en la literatura, sugieren la presencia de centros fibrilares (FC)

Adicionalmente, se observan ribosomas asociados a retículo y en citoplasma, así como cromatina laxa y eucromatina reticulada.

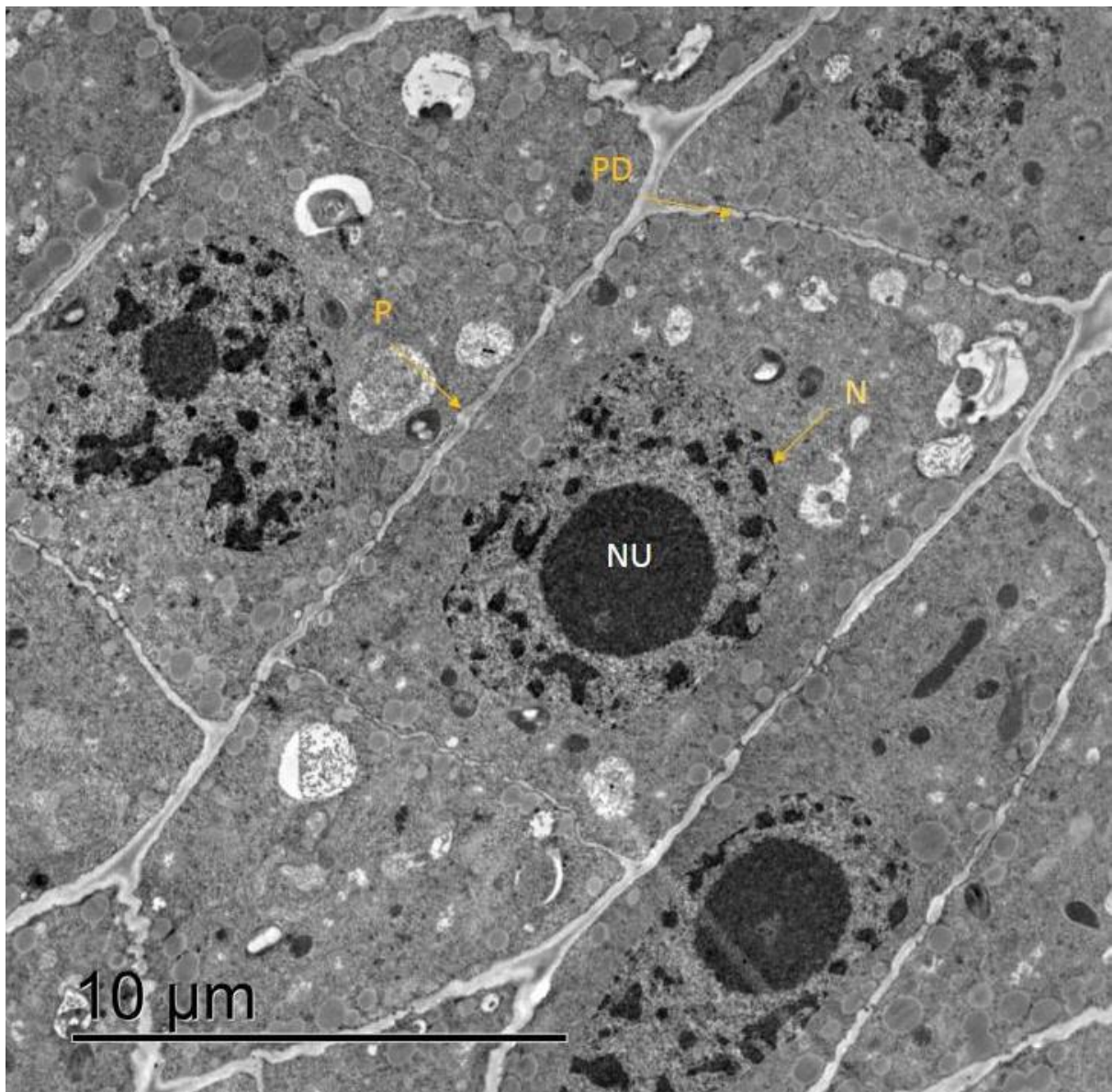


Figura 9. Micrografía electrónica de células de teocintle *Zea perennis*. (P) Pared celular, (PD)

Plasmodesmos, (N) Núcleo reticulado, (NU) Nucléolo celular.

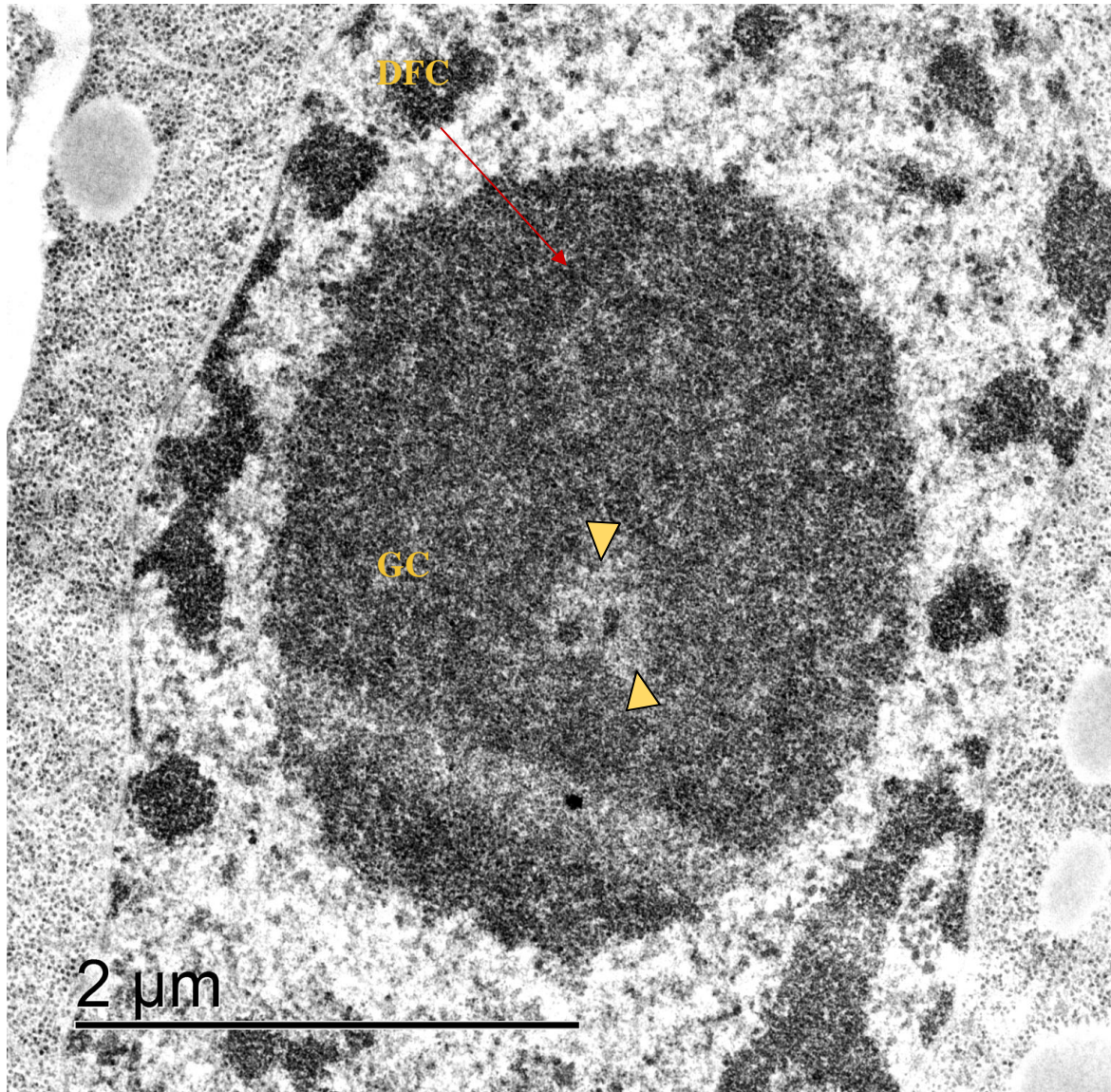


Figura 10. Micrografía electrónica de un nucléolo con componente granular y componente fibrilar denso evidente con una zona menos densa a los electrones al centro (cabezas de flecha).

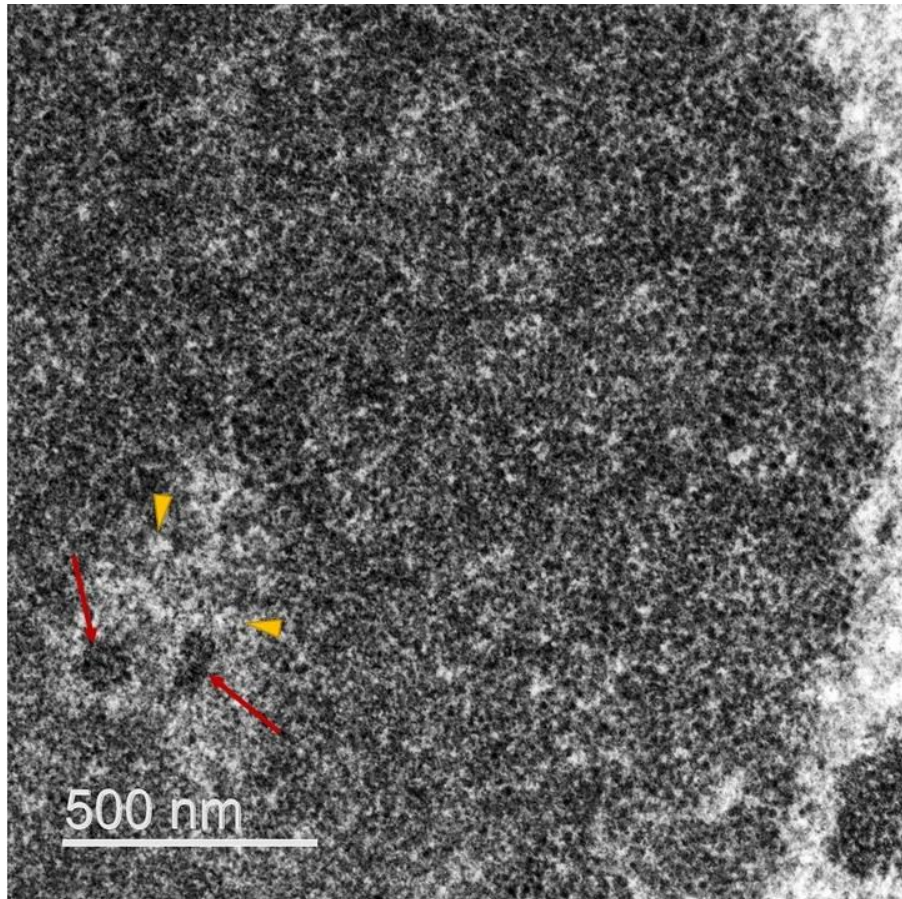


Figura 11. Imagen con mayor aumento que muestra la zona menos densa a los electrones (cabezas de flecha) con porciones de material más contrastado (flechas rojas) que probablemente corresponde a cromatina condensada.

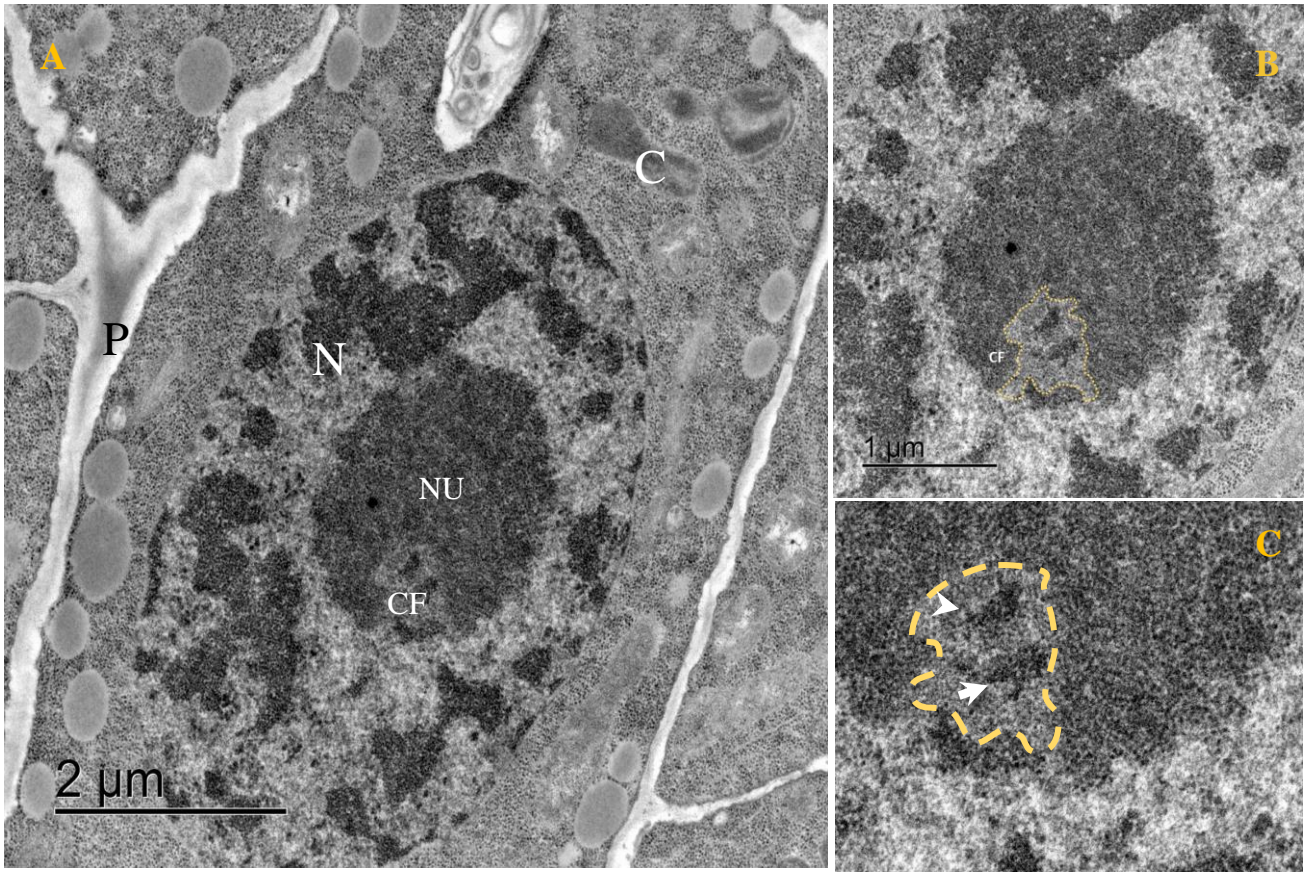


Figura 12. Célula del meristemo radical de teocintle. A: Micrografía electrónica que muestra una célula en la que se puede observar el núcleo (N) con cromatina reticulada, un nucléolo (NU) con una zona menos densa a los electrones, un posible Centro Fibrilar (CF). El citoplasma (C) se puede apreciar con gran cantidad de ribosomas y rodeado por la pared celular (P). B. Nucléolo a mayor aumento. La zona de menor densidad electrónica que morfológicamente se sugiere como Centro Fibrilar (CF) se señala con línea punteada. Del mismo modo, en C se señala esta zona con línea punteada. Los cúmulos de cromatina compacta se aprecian en el interior (cabezas de flecha).

7. Discusión

Las imágenes observadas presentan características descritas con anterioridad en la literatura, un ejemplo claro de ello es el artículo “Nucleolar Fibrillar Centres In Plant Meristematic Cells: Ultraestructure, Cytochemistry And Autoradiography” de Risueño et. al. 1982.

Thiry y Lafontaine, en el 2005, plantean que un tercer componente nucleolar emergió en la transición entre los anamniotas y los amniotas, ya que realizaron observaciones de nucléolos de diferentes organismos eucariontes, llegando a la conclusión de que la mayoría cuentan con nucléolos bipartitas, es decir, nucléolos con dos subcompartimentos celulares y no tres. Asimismo, dichos autores propusieron que las estructuras homogéneas menos densas a los electrones, aún si están compuestas de fibrillas finas sólo deben ser consideradas como centros fibrilares (FC) si existe presencia de RNA Pol I y factores asociados. Por lo anterior, concluyen con que la transición de dos a tres subcompartimentos nucleolares es una adquisición reciente en la evolución.

Por otra parte, C. Risueño et al. (1982), puntualizan dos tipos de FCs: los homogéneos y los heterogéneos, caracterizados por la presencia de fibrillas descritas estructural y citoquímicamente como cromatina laxa; en adición a lo anterior, los FCs heterogéneos presentan un número variable de núcleos de cromatina condensada.

Las observaciones estructurales y los resultados citoquímicos llevaron a los citados autores a proponer que la cromatina presente en los mencionados núcleos rodeados de una zona menos densa a los electrones contiene la misma cromatina que la región organizadora nucleolar (NOR), misma que, como su nombre lo sugiere, reorganiza al nucléolo al final de la mitosis.

Las pruebas citoquímicas realizadas en estos trabajos (Risueño Et al. 1982), principalmente: contraste con EDTA, digestión de RNasa y amina de osmio, mostraron que los núcleos internos se blanquean de la misma forma que las masas de cromatina; los núcleos internos más densos a los electrones corresponden al FC, debido a que muestran el mismo contraste que las masas de cromatina después de la digestión realizada por la RNasa; la amina de osmio, tinción preferencial para DNP, contrastó fuertemente los núcleos de los FCs heterogéneos, así como las masas de cromatina condensada. Por lo tanto, se propuso que los nucléolos que presumiblemente contenían este tipo de FCs, muestran pequeños fragmentos de fibras contrastadas que van de los 8 a los 11 nm a lo largo del espacio nucleolar, mismas que no están distribuidas uniformemente. Finalmente, la digestión de DNasa resultó en el blanqueamiento de fibras que oscilan entre los 8 y 11 nm presentes en los núcleos internos, de la misma manera que ocurrió con la cromatina condensada.

Con base en las observaciones realizadas en este trabajo, se puede aseverar que éstas se apegan de una manera más estrecha a lo propuesto por Risueño et al. (1982), puesto que se evidencia que los nucléolos de *Zea perennis* (teocintle) son tripartitas. Y se descarta que las zonas observadas sean intersticios debido a la presencia de material dentro de los mismos, es decir: núcleos de cromatina condensada.

Sin embargo, considerando las afirmaciones de Thiry y Lafontaine (2005) acerca de que “aún si están compuestas de fibrillas finas sólo deben ser consideradas como centros fibrilares (FC) si existe presencia de RNA Pol I y factores asociados.” (sic), para comprobar la presencia de los tres dominios sería necesario realizar

procedimientos citoquímicos que permitan la identificación de moléculas características de los FC como la RNA Pol I y factores asociados.

El presente trabajo se acota a la descripción ultraestructural y, como ya se mencionó, los resultados presentados se apegan de manera más estrecha a lo descrito por Risueño et al. (1982) por lo cual, se puede concluir que ultraestructuralmente, dicho nucléolo cuenta con tres dominios: FC, DFC y GC.

8. Consideraciones finales

Las perspectivas que plantea este trabajo, con base en los resultados logrados, es la realización de las técnicas citoquímicas pertinentes como ha sido sugerido por Thiry y Lafontaine (2005), la utilización de técnicas con marcadores moleculares y la obtención de imágenes en estereopares con la finalidad de completar la información estructural y que permita caracterizar molecularmente las regiones que se aprecian con menor densidad a los electrones y que nos ha permitido sugerir que corresponden a centros fibrilares heterogéneos.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo resultan importantes desde el punto de vista biológico debido a que conocer los componentes ultraestructurales nos permite especular, por ejemplo, los procesos evolutivos de una especie tan importante como lo es el maíz actual, ya que el estudio del antepasado inmediato del mismo abre las puertas a la investigación y comparación entre ambos organismos.

Como mencioné al inicio del presente, el maíz ha tenido importancia económica y sociocultural desde la época precolombina hasta nuestros días, razón suficiente para motivar la investigación y la generación de conocimiento en torno al

maíz y a las especies que lo precedieron, aunado al hecho de que México es el centro de origen y variación de tan importante cereal.

Referencias

- Arbo, M. (2016) "Botánica Morfológica" <http://www.biologia.edu.ar/botanica/index.html>
- Boisvert FM, van Koningsbruggen S, Navascués J, Lamond AI (2007). "The multifunctional nucleolus." *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8(7):574-585. doi:10.1038/nrm2184
- Boulon S., J. Westman B., Saskia Hutten, François-Michel Boisvert, y Angus I. Lamond, (2010). "The nucleolus under stress." *Mol Cell Biol.*
- Brown JWS, Shaw PJ. (1998). "Small nucleolar RNAs and pre-RNA processing in plants." *Plant Cell* 10:649-1085
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (2012), "Teocintle" Recuperado de <https://www.conabio.gob.mx/usos/maices/teocintle2012.html>
- Cobos J. (2012), "Historia del Microscopio". Universidad Veracruzana, México. Recuperado de <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol25num1/articulos/historia/>
- Clark L. G. y J. B. Fisher. (1986) "Vegetative Morphology of grasses: Shoots and roots." *Int. Grass Symp.:* 37-45.
- De Cárcer G., y Medina FJ., (1999). "Simultaneous localization of transcription and early processing markers allows dissection of functional domains in the plant cell nucleolus." *J Str Biol* 128:139-151
- Deltour R. y Motte P. (1990). "The nucleonema of plant and animal cells: a comparison." *Biol Cell* 68:5-11
- Derenzini M, Pasquinelli G, O'Donohue MF. Ploton D, Thiry M. (2006). "Structural and functional organization of ribosomal genes within the mammalian cell nucleolus." *J Histochem Cytochem* 54:131-145
- Doebley J., (2004). "The genetics of maize evolution." *Annu Rev Genet* 38: 37-59
- Espinosa-García, F. J. y J. Sarukhán. (1997). "Manual de malezas del Valle de México." Ediciones Científicas Universitarias UNAM-Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 407 pp
- Fatica A, Galardi S, Altieri F, Bozzoni I (2000) "Fibrillarin binds directly and specifically to U16 box C/D snoRNA." *RNA* 6:88–95

- Gerbi, S.A., A.V. Borovjagin, y T.S. Lange. (2003). "The nucleolus: a site of ribonucleoprotein maturation." *Curr. Opin. Cell Biol.* 15:318–325
- González-Camacho F., y Medina F.J., (2006). "The nucleolar structure and activity of NopA 100, a nucleolin-like protein, during the cell cycle in proliferating plant cells." *Histochem Cell. Biol* 125:139-153
- González A. (2019). "Morfología de Plantas vasculares." Recuperado de <http://www.biologia.edu.ar/botanica/>
- Grummt I. (2003). "Life on a planet its own: Regulation of RNA polymerase I transcription in the nucleolus." *Genes Dev.* 17:1691-1702
- Henríquez R. Blobgel G. Aris JP., (1990). "Isolation and sequencing of NOPI." *J Biol Chem* 265:2209-2215
- Hernández-Verdun D. (2006). "Nucleolus: from structure to dynamics." *Histochem Cell Biol* 125:127-137
- Heitz, E. (1931). "Die Ursache der gesetzmässigen Zahl, Lage, Forum und Grösse pflanzlicher Nukleolen."
- Lazdins IB, Delannoy M., Sollner-Webb B. (1997) "Analysis of nucleolar transcription and processing domains and pre-RNA movements by in situ hybridization." *Chromosoma* 105:481-495
- Lindström, M.S., Jurada, D., Bursac, S. et al. "Nucleolus as an emerging hub in maintenance of genome stability and cancer pathogenesis." *Oncogene* **37**, 2351–2366 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41388-017-0121-z>
- Rendón-Aguilar B., Aguilar-Rojas V., Aragón-Martínez, M.C., Ávila Castañeda J.F., Bernal-Ramírez L.A., Bravo-Avilez D., Carrillo-Galván G., Cornejo-Romero A., Delgadillo-Durán E., Hernández-Cárdenas G., Hernández-Hernández M., López-Arriaga A., Sánchez-García J.M., Vides-Borrel E y Ortega-Packzca R. (2015). "Diversidad de Maíz en la Sierra Sur de Oaxaca, México: Conocimiento y Manejo Tradicional." *Polibotánica* **39**:151-174
- Rendón-Aguilar B., Bernal-Ramírez L.A., Bravo-Avilez D., Rocha-Munive M.G. (2019). "Temporal dynamics of detected transgenes in maize landraces in their center of origin." *Revista Mexicana de Biodiversidad* 90: e902653. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2019.90.2653>
- Mc Clintock, B. (1934). "The relation of a particular chromosomal element to the development of the nucleoli in *Zea Mays*."

- Moreno-Diaz de la Espina S. Medina FJ, Risueño MC. (1980). "Correlation of nucleolar activity and nucleolar vacuolation in plant cells." *Eur J Cell Biol* 22:724-729
- Mougey EB., O'Reilly M., Osheim Y., Miller OL Jr., Beyer A., Sollner-Webb B., (1993). "The terminal balls characteristic of eukaryotic rRNA transcription units in chromatin spreads are rRNA processing complexes." *Genes Dev* 7:1609-1619
- Newton K., Petfalski E., Tollervey D., Caceres JF., (2003). "Fibrillarin is essential for early development and required for accumulation of an intron-encoded small nucleolar RNA in the mouse." *Mol Cell Biol* 23:8519-8527.
- Pederson, T., (1998). "The plurifunctional nucleolus." *Nucleic Acids Res.* Vol. 26, No.17. P. 3871-3876
- Peachy, L., (1958). "A study of Section Thickness and Physical Distortion Produced during Microtomy." Rockefeller Institute for Medical Research.
- Risueño M.C, Medina F.J., y Moreno-Díaz de la Espina., (1982). "Nucleolar Fibrillar Centres in Plant Meristematic Cells: Ultrastructure, Cytochemistry and Autoradiography." *J. Cell Sci* 58: 313-329
- Sáez-Vásquez J., Caparros-Ruiz D., Barneche F., Echeverria M., (2004). "A plant snoRNP complex containing snoRNAs, fibrillarin, and nucleolin-like proteins is competent for both rRNA gene binding and pre-rRNA processing in vitro." *Mol Cell Biol* 24:7284-7297
- Sánchez G., J.J. y Ruiz C., J.A. (1996). "Distribución del teocintle en México." p. 20-38. In: J.A. Serratos, M.C. Willcox y F. Castillo. *Flujo Genético entre maíz criollo, maíz mejorado y teocintle: Implicaciones para el maíz transgénico*, México, D.F. CIMMYT.
- Sánchez S., (2015). "Biología del Teocintle y efectos de la competencia con el Maíz." Universidad Autónoma del Estado de México
- Sato S., Fujie T. (1997). "Architecture of the nucleonema in root-tip cells of *Raphanus sativus*." *Cytologia* 62:411-419
- Sato S., Yano H., Makimoto Y., Kaneta T., Sato Y., (2005). "Nucleonema as a fundamental substructure of the nucleolus." *J Plant Res* 118:71-81
- Schneider DA., Michel A., Sikes ML., Vu L., Dodd JA., Salgia S. Osheim YN., Bayer AL., Nomura M. (2007) "Transcription elongation by RNA polymerase I is linked to efficient rRNA processing and ribosome assembly." *Mol Cell* 26:217-229.

- Segura-Valdez María de Lourdes Segura-Valdez, Sarai de Jesús Cruz-Gómez, Roberto López-Cruz, Reyna Lara-Martínez, Teresa Agredano-Moreno y Luis Felipe Jiménez-García., (2006). "Observaciones sobre la estructura del núcleo de células del meristemo de raíz de cebolla (*Allium cepa* L.) con el microscopio de fuerza atómica." Lab. de Nanobiología Celular, Depto. de Biología Celular, Facultad de Ciencias, UNAM,
- D.FShaw PJ., Highet MI., Beven AF., Jordan EG., (1995). "The nucleolar architecture of polymerase I transcription and processing." *EMBO J* 14:2896-2906
- Shaw PJ., Beven AF., Leader DJ., Brown JWS (1998). "Localization and processing from a polycistronic precursor of novel snoRNAs in maize." *J Cell Sci* 111:2121-2128
- Stępiński D., (2013). "Functional ultrastructure of the plant nucleolus." Springerlink
- Stępiński D., (2010). "Organization of the nucleoli of soybean root meristematic cells at different states of their activity." *Micron*. 41.
- Thiry, M., Lamaye, F., Lafontaine D., (2011). "The nucleolus: when 2 became 3." *Nucleus* (Austin, Texas) 2(4):289-93 .
- Thiry, M. y Lafontaine, D. (2005). "Birth of a nucleolus: the evolution of nucleolar compartments." *Trends in cell Biology*. Vol. 15
- Vázquez-Nin, G. y Echeverría O. (2000). "Introducción a la microscopía electrónica aplicada a las ciencias biológicas" Gerardo Vázquez Nin, Olga Echeverría—México: FCE, UNAM, FC. 168 pp.
- Vela, E., (2011) "El Maíz Catálogo visual." Instituto Nacional de Antropología e Historia, México., p. 7-49.
- Wilkes, G.H. (2004). "Corn, Strange and Marvelous: But Is a Definitive Origin Known?" Pp.3-63 In: C.W. Smith (Ed) *Corn: Origin, History, Technology, and Production*. John Wiley & Sons
- Woese, C. R., O. Kandler M. L. Wheelis, (1990). "Towards a natural system of organisms: Proposal of the domains Archaea, Bacteria and Eucarya." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 87. P. 4576-4579
- C. R. Woese y G. E. Fox (1977), "Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms." *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977 November; 74(11): 5088–5090.

- Yano H., y Sato S., (2000). "Ultrastructural localization of transcription sites, DNA, and RNA reveals a concentric arrangement of structural and functional domains in plant nucleonema." *Protoplasma* 214:129-14

