



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE  
MEXICO**

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**LABORATORIO DE  
NANOBIOLÓGÍA CELULAR**

**Ultraestructura de ribosomas citoplasmáticos y  
mitocondriales en células de meristemo apical y  
radical de *Zea perennis* (Poaceae)**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**BIÓLOGO**

**PRESENTA**

**Erick Rodrigo Pérez López**

**DIRECTOR DE TESIS**

**Dr. Luis Felipe Jiménez García**



**Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2023**



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.

## Hoja de datos

### 1.- Datos del alumno

Pérez

López

Erick Rodrigo

5578894316

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

41302264-4

### 2.- Datos del tutor

Dr.

Luis Felipe

Jiménez

García

### 3.- Datos del sinodal 1

Dra.

Nayeli

Torres

Ramírez

#### **4.- Datos del sinodal 2**

Dr.

Leonardo

Peraza

Reyes

#### **5.- Datos del sinodal 3**

Dra.

Ruth

Rincón

Heredia

#### **6.- Datos del sinodal 4**

M. en C.

Ma. de los Remedios Josefina

Ramírez

Rangel

#### **6.- Datos del trabajo escrito**

Ultraestructura de ribosomas citosólicos y mitocondriales en células de meristemo apical y radical de *Zea perennis* (Poaceae)

66 pp

2023



A los abuelos, los padres y los maestros que bien hicieron en compartir experiencias y enseñanzas sin saber lo que con eso haría, sin saber que sería como soy ... en memoria pues de los ancestros, conciencias aun vivientes.

A Gregorio Pérez Ramos

<< El destino nos guía y nosotros cedemos ante el destino  
y los contados hilos del contorsionado huso  
solicitos pensar en cambiar no pueden.  
Lo que hacemos y soportamos, de alto  
y preestablecido decreto el todo pende;  
y la dura hermana  
el torcido hilo para atrás no retuerce.  
Discurren las parcas en cierto orden,  
mientras cada uno de nosotros  
va inseguro a enfrentar sus destinos. >>

Séneca

## Agradecimientos

Ciertamente son muchos quienes directa o indirectamente me han acompañado en este proceso, brindándome justamente lo necesario en los momentos adecuados sin ser necesariamente “algo” respecto a este trabajo, sino siendo más bien consideraciones personales que podrían ser casi banales para muchos. He de decirles que han sido perlas lo que me han brindado, pues han compartido tiempo, curiosidades, conocimiento, consejos. Espero de alguna forma también el haber crecido algo bueno en ellos, haber sido recíproco en el trato y enseñanza que siempre me brindaron.

Quiero agradecer a los tantos profesores que conocí en la facultad, con sus particularidades cada uno y sin embargo todos con un mismo objetivo; compartir un poco de sus respectivos saberes, por nombrar a algunos de ellos, a la Dra. Martha Juana, el Dr. Cifuentes, Josue Orlando, Lev Jardon, Milagros Mendez, Karla Fonseca, Cossett, David Suarez, Tanya Gonzales, entre muchos otros que compartieron sus saberes y hacían una clase amena y retadora en el sentido de motivar a cuestionar, a tener más curiosidad sobre lo que se ve, en fin, a abrir los ojos a un nuevo mundo, bajo una lente sistemática llamada ciencia.

También he de agradecer a algunos amigos que se presentaron en el lugar y tiempo correcto, agradezco el haberles conocido; Misael, Oralia, Isabel, Rebeca, Mau, Manu, Tere, Demian, Chucho, Fercha., pues fueron crisoles donde los días se transformaban y concentraban tanto en tiempo y calidad aun los recuerdo y llevo conmigo. He de agradecer también al pequeño grupo de Ciencias TV, con quienes compartí tiempo y buenos ratos, platicando acerca de los temas de las charlas que grabamos, ayudándonos con algunos temas que no eran precisamente de nuestras áreas, pero siempre con disposición de compartir el conocimiento, gracias Efra, tocayo (Erik), Güero, Rodrigo, Homero, Oso, espero algún día poder compartir una buena charla con uds y con la bandera nacional.

Y bueno, de forma particular me gustaría agradecer al Dr. Luis Felipe y a la Dra. Lourdes Segura a quienes conocí como profesores, excepcionales como algunos otros profesores en la facultad, y por supuesto con sus propias particularidades que los siguen haciendo docentes increíbles. Estando en su clase, daba la impresión que recitaban de memoria aquel saber que seguramente les habría costado años concretar, pero lo hacían ver tan fácil como cualquier profesional ante los ojos de un simple espectador. Desde ahí agradecí el

haberlos conocido, y después volví a agradecer cuando permitieron que fuera su laboratorio aquel espacio donde en cierta forma empecé a madurar un pensamiento mas critico, mas enfocado, no solamente desde el ámbito científico, también desde el humano. Les agradezco el tiempo que me regalaron para aprender, las dudas que me resolvieron y aquellos otros momentos de convivio que siempre terminaban en charlas interesantes, datos curiosos y anécdotas que siempre parecían motivar aquel espíritu científico en quien fuera que estuviera escuchando... les agradezco.

Agradezco a la Dra. Reyna Lara y a la Dra. Lourdes Agredano, quienes siempre estuvieron dispuestas a enseñarme y aconsejarme en el laboratorio de microscopia para que el resultado del procesamiento de las muestras fuera cada vez mejor.

Y agradezco también de forma especial a la Biol. Sarai de Jesus Cruz Gómez y a la M. en C. Ana Paulina Mendoza von der Borch, técnicos académicos del Laboratorio de Nanobiología Celular, quienes con gran desinterés compartieron su conocimiento y experiencia en el trabajo teórico y práctico del laboratorio, además de compartir algunas anécdotas y experiencias de la vida, como estudiantes, como profesoras, como personas... Muchas gracias!.

A Diego, Naty (Halconcito), Said y Jenny; vaya que les agradezco, tuvimos una convivencia dentro y fuera del laboratorio que sí, muy a menudo convergia a charlas sobre lo que cada quien estaba haciendo, fue aún más que eso, fue también darnos consejos para afrontar situaciones esperadas e inesperadas (por las que alguno de nosotros ya había pasado quizá). Por aquellas horas de comida en que podían salir las personalidades más cómicas de cada quien, o las más filosóficas, o las más científicas; gracias.

Y bueno, he de decir que también me siento muy agradecido con mi familia, que ha sido cuna de grandes valores que me han permitido sentirme cerca a pesar de la distancia, que nos unen en los momentos de felicidad y aún más en aquellos de adversidad. He de agradecer pues a mis hermanas, Gaby y Gise (La Ji-ji), pues han sido seres de referencia en mi actuar y pensar, siempre me han apoyado desde sus respectivas trincheras, aconsejando y motivando. A ustedes luceros, les agradezco mucho el estar conmigo en todo momento.

A mis padres Luci y Chevito; a ustedes todo les agradezco.



El hombre sumergido en las tinieblas de la noche, que ha descansado de sus trabajos y penalidades, abre los ojos al placer más brillante cuando las horas del día se deslizan al descorrer el velo de la naturaleza; todo parece que recobra una nueva existencia en el gran teatro del mundo, al adornarse la Tierra con los brillantes colores de la luz, cuya belleza deslumbra nuestros ojos...

Wenceslao Barquera

Física de la luz, 1809

(Tomado de: La luz, Ana Maria Cetto)

## Resumen

El microscopio, desde su origen, ha emprendido un largo camino hacia el progreso en su diseño y funcionalidad a través de los avances tecnológicos, lo que conlleva al notable mejoramiento de sus posibilidades de observación y el impacto favorable en la ciencia a partir de sus aportaciones en la investigación. Dicha evolución se ha destacado en los últimos años impulsando la diversidad de equipos y técnicas de microscopía disponibles hoy en día. Asimismo, es imprescindible destacar que en la historia de la investigación en los campos de la biología celular, la participación de la microscopía y el refinamiento de sus técnicas ha contribuido y seguirá generando una gran cantidad de información sobre la composición, estructura y función de las células, así como de sus componentes a un nivel micro y nanométrico.

En el presente trabajo se realizó un análisis mediante Microscopía Electrónica de Transmisión a la citoarquitectura de zonas meristemáticas en la porción apical y radical de germinados de teocintle (*Zea perennis*), con un interés particular sobre la ultraestructura de sus elementos ribosomales. Estos ribosomas se describen como complejos macromoleculares donde se lleva a cabo la lectura y traducción de transcritos de RNA mensajero (mRNA) a proteínas. Se ha reportado su presencia en todas las células eucariotas y procariotas, con algunas diferencias a nivel molecular y de ultraestructura. Para el caso específico del teocintle, planta propuesta, con base en ensayos de genómica, como el ancestro evolutivo de las actuales variedades de maíz (*Zea mays ssp*) resultado de un largo proceso de domesticación, no existe un registro descriptivo de su ultraestructura ribosomal a partir de métodos de microscopía, lo que implica una falta de información inherente a sus características morfométricas y sus diferencias apreciables con respecto a sus dimensiones.

Los primeros resultados mostraron estructuras ribosomales semiesféricas, con mayor abundancia en el citosol celular y que compartían en promedio las mismas dimensiones en su diámetro, similar al de otras células eucariontes, a diferencia de las estructuras ribosomales medidas en nucléolo y mitocondria, donde cabe resaltar que estas últimas, en mitocondria tienen dimensiones similares a las de algunas células procariontes. Sería pertinente en un futuro realizar otro tipo de metodologías complementarias que nos brinde información sobre diferencias y similitudes entre ribosomas de teocintle y ribosomas de maíz, para tener mas informacion con respecto a posibles cambios ultraestructurales productos del proceso de domesticación.

## Palabras clave

- Biogénesis
- Célula
- Cloroplasto
- Código genético
- Cromatina
- Cromosoma
- DNA codificante
- DNA no codificante
- Domesticación
- Dominio eukarya
- Endosimbiosis
- Enlace peptídico
- Espaciador Intergenico
- Eucariontes
- Evolución
- Grupo taxonómico
- Haz de electrones
- Índice de refraccion
- Lente apocromática
- Lente convexa
- Lente electromagnética
- Lente plano-convexa
- Microscopia
- Mitocondria
- Nucléolo
- Objetivo acromático
- Objetivo compuesto
- Óptica
- Polimerasa
- Procariontes
- Proteína
- Reacción fotosintética
- Ribonucleoproteina
- Ribosoma
- Ribozima
- RNA mensajero
- RNA ribosomal
- Secuencia proteica
- Telomerasa
- Teocintle
- Teoría ondulatoria de la luz
- Traducción
- Transcripción
- Transcrito policistrónico
- Ultraestructura

## Abreviaturas

- ATP - Adenosin trifosfato
- Cb - Cuerpo de Cajal
- DFC - Centro fibrilar denso
- DPR - Ribosoma protodimérico
- eN - Envoltura nuclear
- FC - Centro fibrilar
- GC - Centro granular
- IGS - Espaciador intergénico
- ITS - Espaciador transcrito interno
- LSU - Subunidad grande
- Mit - Mitocondria
- N - Núcleo
- n - Nucléolo
- NOR - Región de organización nucleolar
- PTC - Centro peptidil-transferasa
- rDNA - DNA ribosomal
- RNPs - Ribonucleoproteínas
- rRNA - RNA ribosomal
- snoRNP - Ribonucleoproteína pequeña nucleolar
- SRP- Partículas de reconocimiento de señal
- SSU - Subunidad pequeña
- TEM - Microscopio Electrónico de Transmisión
- TF - Factor de transcripción
- UBF - Factor de unión río arriba
- Va - Vacuola
- RE - Retículo endoplasmático
- RER - Retículo endoplasmático rugoso
- RNAp1 - RNA polimerasa 1
- RNP - Ribonucleoproteína
- RPS - Proteínas ribosomales de la subunidad pequeña
- RPL - Proteínas ribosomales de la subunidad larga

## Lista de figuras y tablas

- Figura 1 - Microscopio de Zacharias Janssen
- Figura 2 - Primeras ilustraciones científicas (utilizando un microscopio)
- Figura 3 - Microscopio de Robert Hooke
- Figura 4 - Microscopios de Leeuwenhoek
- Figura 5 - Reestructuración de la Teoría de Formación de Imagen
- Figura 6 - Aportaciones de Abbe a la microscopía óptica
- Figura 7 - Primer MET de Max Knoll y Ernst Ruska
- Figura 8 - Gránulos densos (Gránulos de Palade)
- Figura 9 - Organización y estructura de los genes ribosomales
- Figura 10 - Estructura secundaria de moléculas de rRNA en *S. cerevisiae*
- Figura 11 - Reconstrucción tridimensional del ribosoma eucarionte
- Figura 12 - Mecanismo de traducción en células eucariontes
- Figura 13 - Biogénesis de las subunidades ribosomales en eucariontes
- Figura 14 - Ribosoma mitocondrial en humanos
- Figura 15 - Proceso de domesticación y diversificación en plantas
- Figura 16 - Comparación morfológica entre *Zea perennis* (Teocintle) y maíz
- Figura 17 - Distribución de las variedades de teocintle en México
- Figura 18 - Principales haplotipos ancestrales y su propagación
- Figura 19 - Cortes semifinos de meristemo radical
- Figura 20 - Arquitectura nuclear en células de teocintle
- Figura 21 - Arquitectura de nucléolo celular en células de teocintle
- Figura 22 - Localización de *in situ* de ribosomas
- Tabla 1 - Análisis estadístico - Medias y error estándar
- Figura 23 - Gráfica de los valores media y desviación estándar
- Figura 24 - Análisis gráfico de la dispersión de datos entre compartimentos

# Índice

- **Agradecimientos**
- **Resumen**
- **Palabras clave**
- **Abreviaturas**
- **Lista de figuras y tablas**

<b>1. Introducción</b>	<b>16</b>
<b>2. Antecedentes</b>	<b>17</b>
<b>a. Breve historia de la microscopía</b>	<b>17</b>
i. El comienzo de una historia. Microscopía óptica - empírica	
ii. Microscopía óptica - formal (científica) / Carl Zeiss y Ernst Abbe	
iii. Una nueva etapa en la microscopía / Ernst Ruska y los inicios de la microscopía electrónica	
<b>b. Una sorprendente maquinaria molecular: El ribosoma</b>	<b>27</b>
i. El descubrimiento y su desarrollo	
ii. Estructura y función	
iii. El nucléolo y la biogénesis de las subunidades ribosomales	
iv. Mitocondria y sus mitorribosomas	
<b>c. El teocintle y su domesticación</b>	<b>36</b>
<b>3. Justificación</b>	<b>42</b>
<b>4. Planteamiento del problema</b>	<b>42</b>
<b>5. Hipótesis</b>	<b>43</b>

<b>6. Objetivos</b>	<b>43</b>
<b>7. Material y métodos</b>	<b>44</b>
<i>a. Fijación y post fijación</i>	
<i>b. Deshidratación</i>	
<i>c. Inclusión en Epon</i>	
<i>d. Corte y contraste</i>	
<i>e. Contraste con acetato de uranilo y citrato de plomo</i>	
<i>f. Contraste con acetato de uranilo, EDTA y citrato de plomo</i>	
<i>g. Microscopía electrónica de transmisión</i>	
<i>h. Cuantificación</i>	
<b>8. Resultados</b>	<b>48</b>
<b>9. Discusión</b>	<b>56</b>
<b>10. Conclusiones</b>	<b>59</b>
<b>11. Perspectivas</b>	<b>60</b>
<b>12. Referencias</b>	<b>61</b>

## Introducción

La traducción de la información genética es un proceso de gran importancia que involucra la decodificación de los RNA mensajeros (mRNA) a proteínas y es llevado a cabo por los ribosomas (Waltz F., et al, 2019; Janska H y Kwasniak M, 2014), estructuras que conforman un complejo ribonucleoproteico (Horigucha G., et al 2012). Su biogénesis se considera un proceso fundamental que tiene inicio en el nucléolo mediante la transcripción de un transcrito policistrónico de RNA ribosomal (rRNA) y su posterior maduración con la participación de diferentes proteínas involucradas tanto en las modificaciones como en la formación del complejo *per se* (Weis B. L., et al 2015).

Los ribosomas no son exclusivamente de origen nuclear, se pueden encontrar en algunos organelos que debido a su origen endosimbiótico, contienen su propio material genético y la información necesaria que codifica para la maquinaria encargada de la biosíntesis de proteínas (Kitakawa M y Isono K, 1991; Bieri P. et al, 2016). Estos organelos son la mitocondria, donde se realiza la respiración celular, oxidando compuestos orgánicos para generar energía en forma de ATP (Schertl y Braun, 2014; Atkin y Macherel, 2009); y el cloroplasto, presente en células vegetales, y responsable de la conversión de energía y fijación de carbono a través de reacciones fotosintéticas (Sharma MR, et al, 2007; Bieri P. et al, 2016). Estos ribosomas se encuentran prácticamente en cualquier organismo vivo, pues su importancia es crucial para mantener cada célula funcional. Justamente ser una estructura tan conservada en todos los organismos lo hace un objeto de estudio que nos puede indicar cambios que probablemente son producto de procesos evolutivos.

Por su parte, el teocintle (*Zea perennis*) que es una planta perteneciente a la familia Poaceae, es considerada el pariente más cercano, filogenéticamente, a las variedades actuales de maíz (*Zea mays*), por lo que como modelo de estudio, nos puede brindar información sobre algunos cambios en la arquitectura celular que pudieran ser resultado de un proceso de domesticación que tiene alrededor 10,000 años y que aún hoy en día continúa como proceso (Doebley JF., et al 2018; Vielle-Calzada JP., et al 2016). A pesar de que 10,000 años nos pudiera parecer mucho tiempo, en una escala macroevolutiva es muy poco. Sin embargo nos causa curiosidad la pregunta si acaso es tiempo suficiente para generar cambios significativos en su arquitectura celular.

.

## **Antecedentes**

### **a) Breve historia de la microscopía**

Se puede reconocer que la ciencia posee un carácter histórico–social muy marcado, cuyas interacciones han dado origen a nuevos conceptos y rediseñado algunos viejos de tal forma que esta interacción se ha vuelto indispensable hasta llegar al siguiente punto de vista: “la ciencia pareciera ser una disciplina intelectual que se va construyendo por las sociedades humanas a lo largo de su historia, evolucionando a la par de sus conceptos en gran medida debido a la formulación de problemas que tienen algún sentido histórico” (Paez RJ., Calderón GI y Joglar CL., 2016). A su vez, se reconoce, desde hace siglos quizá, que gran parte del conocimiento y experiencia sobre algún “fenómeno” se ha logrado obtener gracias a su observación y posterior escrutinio. Algunas corrientes de pensamiento como el empirismo y el positivismo, tienen una visión predominante que consiste en pensar en la percepción sensorial como desencadenante de ideas en la mente, de las cuales algunas podrían derivar en conocimiento científico, instaurando con esto que el conocimiento emana de los hechos de la experiencia, la cual en primera instancia se experimenta a través de la observación (Sanchez Lera RM y Olivia Garcia NR., 2015).

En este sentido, resulta curioso pensar en los inicios del uso del microscopio, en esas primeras observaciones realizadas por algunos pioneros en el campo (Jenssen, Cesi, Hooke, Leeuwenhoek, Malpighi, etc.) que al parecer carecían como tal de alguna unidad intrínseca y de finalidad, y fueron más bien guiadas por una curiosidad que les permitió adentrarse completamente en una zona inexplorada de la naturaleza.

## i) El comienzo de una historia. Microscopía óptica - empírica

Sería pretencioso querer abarcar toda la historia que está detrás de la microscopía que se ha desarrollado hasta nuestros días, pues han sido muchos grandes personajes quienes han dejado pequeñas y grandes contribuciones en este campo de la ciencia. Sin embargo, han existido personajes con una curiosidad incesante que en conjunto con su increíble capacidad de observación lograron mostrar al mundo que existe mucho más de lo que es posible ver solamente teniendo el ojo como instrumento. Descubrieron de alguna forma nuevos fenómenos naturales y arquitecturas diversas a escalas micrométricas que difícilmente se hubieran podido simplemente imaginar.

Actualmente se reconocen a Hans y su hijo Zacharias Janssen, además de Hans Lippershey, como posibles inventores de los primeros microscopios. Tomando en cuenta que ya existía cierto conocimiento de las lentes, fueron probablemente quienes mejor se las ingeniaron para hacer en un principio que lo diminuto pudiera ser observado con más detalle. Al parecer, este novedoso invento se fue volviendo cada vez más popular, hasta que hubo quienes vieron en el microscopio una poderosa herramienta para la investigación biológica a una microescala. Fue la simplicidad de la invención la que hizo que rápidamente se produjera por artesanos y curiosos, derivando en cierta confusión alrededor de su inventor primero, pero a su vez poniendo este instrumento cada vez más accesible al público general. (Bardel, D., 1983; Arenas J., 2005)

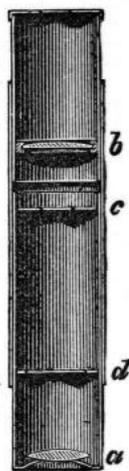


Figura 1. Microscopio de Zacharias Janssen. Es considerado el primer microscopio compuesto, fabricado en la última década del siglo XVI. Este instrumento está formado por dos cilindros de latón concéntricos, cada uno con una lente. Al mover estos cilindros se lograba enfocar la imagen aumentada de la muestra observada. Imagen de referencia tomada de internet (<https://proyectoidis.org/microscopio/>).

Uno de los primeros registros que se tienen sobre el uso del microscopio para una investigación biológica data del siglo XVII (1625), y fue un estudio sobre la morfología de las abejas denominado *Apiarium*, realizado como parte de un tratado de historia natural por Federico Cesi y Francesco Stelluti, quienes fueron miembros reconocidos de la *Accademia dei Lincei* en Roma, Italia (Bardel. D, 1983).

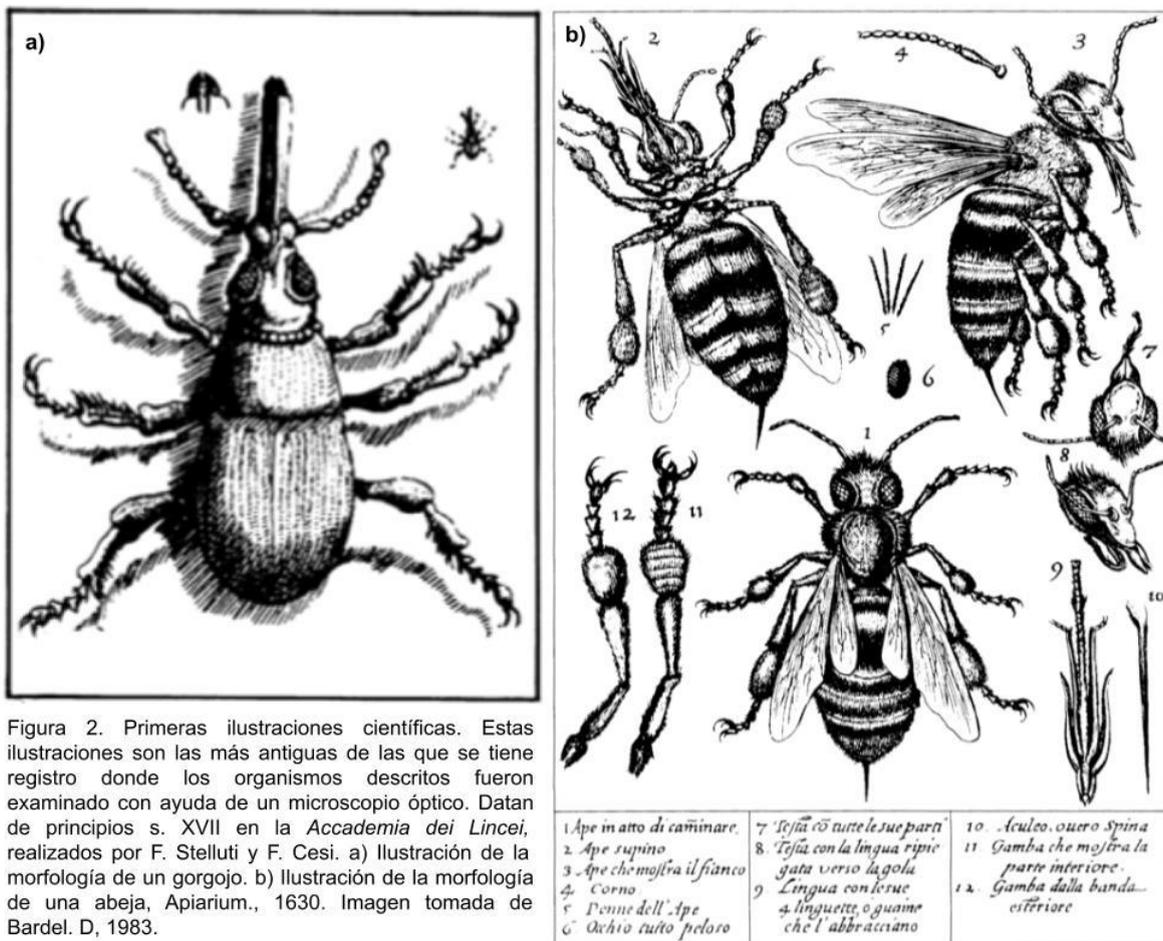


Figura 2. Primeras ilustraciones científicas. Estas ilustraciones son las más antiguas de las que se tiene registro donde los organismos descritos fueron examinados con ayuda de un microscopio óptico. Datan de principios s. XVII en la *Accademia dei Lincei*, realizados por F. Stelluti y F. Cesi. a) Ilustración de la morfología de un gorgojo. b) Ilustración de la morfología de una abeja, *Apiarium*, 1630. Imagen tomada de Bardel. D, 1983.

Algunas décadas después Robert Hooke publicó en 1665 a la edad de 30 años su obra *Micrographia*, donde realizó esquemas detallados de sus observaciones al microscopio. Hooke dio la primera gran innovación técnica al microscopio, obteniendo imágenes de gran calidad para esos años. Su microscopio se basó en el principio funcional del telescopio astronómico inventado por Galileo. Pasaba gran tiempo inventando una multitud de aparatos para observar, medir y registrar fenómenos de la naturaleza, poniendo gran esfuerzo en aumentar el alcance de los sentidos para observar, analizar y entender lo percibido.

El trabajo de Hooke para perfeccionar el microscopio, le permitió la primera descripción de la célula, y una observación fina de los tejidos (Arenas J., 2005; Sanchez Lera, RM y Olivia Garcia, NR., 2015; Páez RJ., Calderón GI. y Joglar CL., 2016).

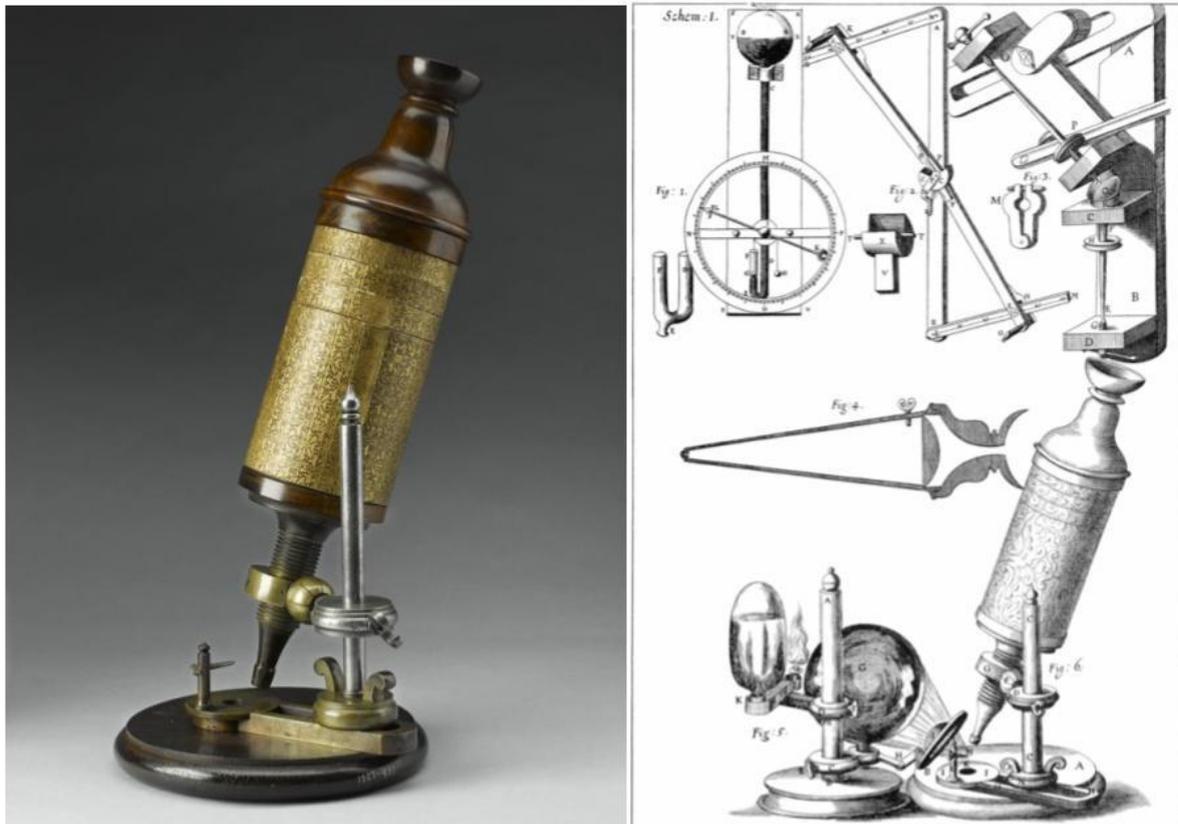


Figura 3. Microscopio de Robert Hooke. La imagen del lado derecho corresponde a una réplica del microscopio original utilizado por Hooke en la mayoría de descripciones hechas para *Micrographia* (Réplica fabricada en 1921). En el lado izquierdo de muestra el esquema de este mismo microscopio utilizado por Hook, presentado en su libro *Micrographia*, en 1665.

Por su parte, Antoni van Leeuwenhoek en 1668 consiguió imágenes de mayor calidad a pesar de ocupar microscopios simples. Para hacer esto talló pequeñas lentejuelas de vidrio pulido, logrando imágenes con aumentos de hasta 270x, y fue él mismo quien en 1675 observó una gran cantidad de organismos en aguas estancadas. Fue también el primero que vio y describió las bacterias, la levadura, la vida existente dentro de una gota de agua y la circulación de corpúsculos sanguíneos en los vasos capilares (Sánchez Lera, RM y Olivia Garcia, NR., 2015).

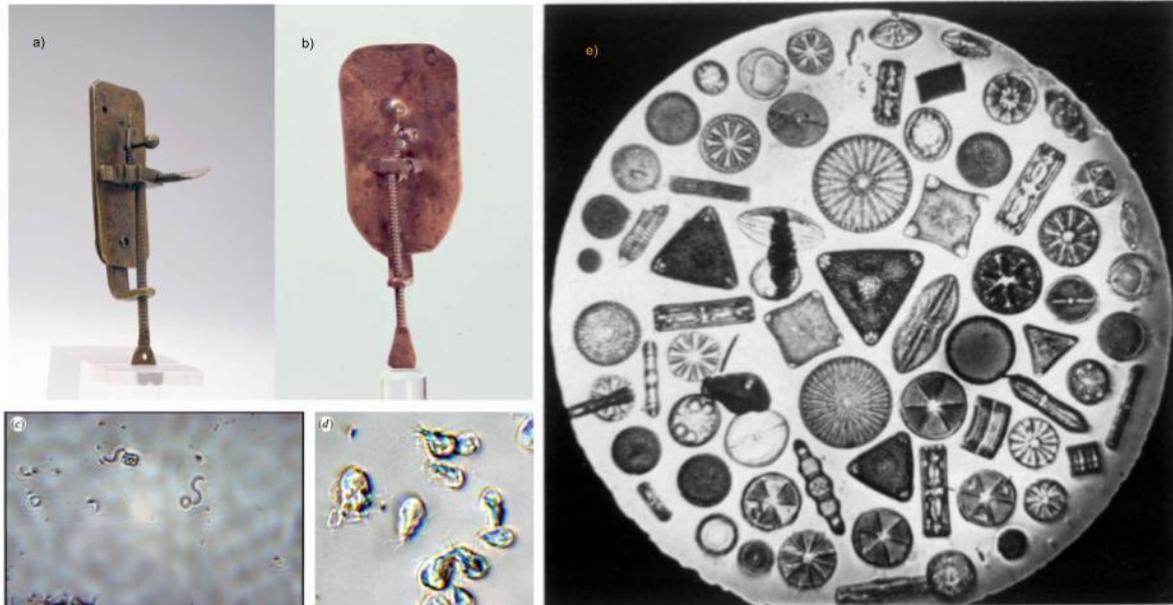


Figura 4. Microscopios de Leeuwenhoek. a) y b) corresponden a réplicas recientes de algunos microscopios fabricados por Leeuwenhoek. Son microscopios simples de una sola lente, pero con mecanismos complejos para colocar la muestra, además por la calidad de sus lentes alcanzaban aumentos superiores a los alcanzados por microscopios compuestos de la misma época. c) bacterias, d) Giardia (parásitos intestinales) y e) diatomeas en agua encharcada, son imágenes de algunas muestras que Leeuwenhoek describió en sus cartas a la Royal Society, visualizadas con las réplicas recientes de sus microscopios. Imágenes tomadas de Lane N., 2015 (a-d) y van Zuylen J., 1981 (b).

Muchos fueron quienes realizaron distintas aportaciones en mayor o menor medida consolidando el conocimiento hasta llegar a las bases y principios en óptica (y en la consolidación del conocimiento científico en general) aún vigentes hoy en día. Malpighi fue uno de los primeros en observar tejidos vivos bajo el lente en 1668 tomando como referencia el trabajo de Hooke, fabricó un microscopio al que dotó de lentes de aumento y observó la unión entre arterias y venas mediante una red de vasos o capilares. A pesar de que los instrumentos ópticos no eran lo suficientemente poderosos como para reconocer la naturaleza íntima de la célula, se encontraron deducciones y conclusiones atinadas (Sánchez Lera, RM y Olivia García, NR., 2015).

También Christian Huygens, quien colaboró ampliamente desde el campo de la física y la astronomía, aportó de forma considerable algunas ideas sobre el comportamiento de la luz, con su teoría ondulatoria de la luz, la cual parte del concepto de que cada punto luminoso de un frente de ondas puede considerarse una nueva fuente de ondas (conocido ahora como principio de Huygens). Los aportes de su teoría ondulatoria de la luz y su tratado de la luz, donde incluía algunos principios de reflexión y refracción fueron decisivos para aperturar una nueva época en el estudio de la óptica (Arenas J., 2005).

## ii) Microscopía óptica - formal (científica) / Carl Zeiss y Ernst Abbe

El siglo XIX tuvo grandes avances en lo relativo a la óptica y el desarrollo de las lentes para que éstas tuvieran mejor calidad con respecto a las que habían utilizado con anterioridad, además de introducir acromáticos y cambios en la iluminación, cosa que permitía mejoras en la calidad de imagen. En 1820, Carlos Chevalier introdujo los objetivos compuestos, y éstos fueron perfeccionados cerca de diez años después por Joseph Jackson Lister, quien también fue inventor de las primeras lentes apocromáticas, principalmente para corregir aberraciones cromáticas y generar un aumento en la distancia focal (Sanchez Lera, RM y Olivia Garcia, NR., 2015).

Cabe mencionar que a pesar de que hubo muchas personas interesadas en fabricar microscopios de muy buena calidad, hasta la primera mitad del siglo XIX éstos se seguían construyendo de forma empírica. Las lentes utilizadas para estos instrumentos no tuvieron demasiadas correcciones en su fabricación desde la época de Leeuwenhoek y Robert Hooke (siglo XVII) y la imagen proyectada aún presentaba errores a causa de la composición y forma de la lente, y por ende, de la difracción de la luz a través de ésta.

Sin embargo, fue después de dos siglos del uso de microscopios en investigaciones biológicas que empezó una revolución en su fabricación, en la cual mucho tuvieron que ver dos grandes visionarios, Carl Zeiss y Ernst Abbe. Esta revolución en la fabricación fue producto de décadas de pruebas de ensayo y error, de búsqueda de materiales de calidad, de poderosas ideas como la teoría de formación de una imagen, y claro, de aquella pequeña ecuación sobre la resolución óptica de un instrumento, con la que Abbe pudo diseñar lentes de alta precisión como nunca antes se habían visto.

Carl Zeiss desde una edad temprana tuvo gran curiosidad acerca del funcionamiento de las cosas, en particular de la mecánica y funcionamiento de los inventos de su época. La gran influencia que tuvo el particular acercamiento de Carl Zeiss con Mathias Schleiden, uno de los desarrolladores y exponentes de la teoría celular, quien trabajó en Jena desde 1839. Schleiden desencadenó en Zeiss el particular interés por los microscopios pues debido a sus descubrimientos (la célula como unidad fundamental de todo organismo) Carl logró ver en el microscopio una herramienta indispensable para el quehacer científico, la investigación y la enseñanza.

Zeiss comercializó sus primeros microscopios compuestos en 1857 y fue hasta el año de 1865 en que se acercó a Ernst Abbe. El objetivo de Abbe no era solo producir microscopios que fueran mejores que los de la competencia, quería abordar el problema considerando la teoría apropiada. Su éxito se concretó una vez que tuvo en cuenta el carácter ondulatorio de la luz, con lo que pudo formular una Teoría de Formación de Imagen en el Microscopio considerando la difracción de la luz cuando ésta pasa a través de una lente, y la evaluación de las posibilidades de resolución microscópica, con lo cual describe una fórmula matemática para la resolución de los microscopios;

$$R = \lambda/2n \sin\alpha$$

donde  $R \rightarrow$  resolución;  $\lambda \rightarrow$  longitud de onda;  $n \rightarrow$  índice de refracción del medio entre la muestra y el objetivo; y  $\alpha \rightarrow$  semi apertura del objetivo.

Con esto dio forma al concepto de límite de resolución.

A partir de 1872, todas las ópticas de los microscopios de Zeiss se basaron en cálculos realizados por Abbe. Lo que ahora se conoce como la teoría de formación de imagen, que afirmaba que la resolución de la imagen estaba relacionada con los efectos de difracción, fue una gran decepción para los microscopistas, pues demostró que la capacidad de resolución de los microscopios ópticos está limitada por la longitud de onda de la luz (Wimmer W., 2017).

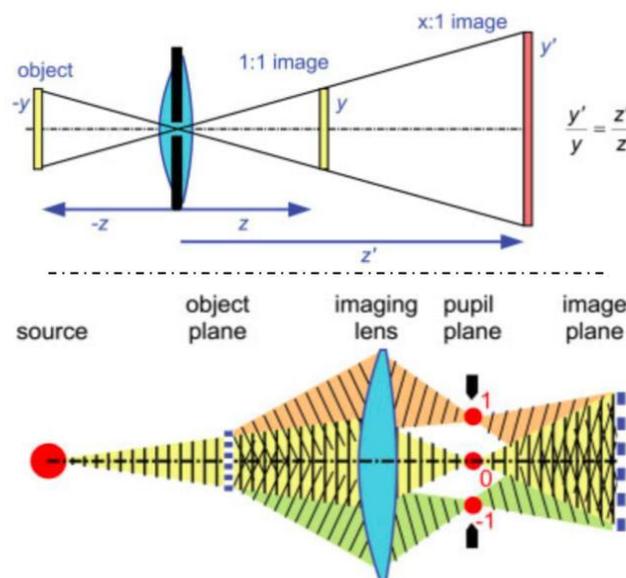


Figura 5. Reestructuración de la Teoría de Formación de Imagen. En el plano superior se muestra un esquema de la teoría de formación de imagen considerada hasta el s. XIX., postulando que una proyección central permite todas las escalas de la imagen utilizando una cámara oscura. En el plano inferior se muestra la teoría de formación de imagen postulada por Ernst Abbe en 1873., en la cual considera central el rol de la difracción y la interferencia de la luz en la formación de la imagen. Esquemas tomados de *Handbook of Optical Systems*; H. Gross, 2005.

Abbe realizó nuevas adaptaciones al microscopio, que fueron desde el uso de objetivos apocromáticos perfeccionados, junto a la técnica de la inmersión homogénea con aceite de cedro, la implementación de una subplatina y posteriormente distintos tipos de condensadores (Sánchez Lera, RM y Olivia Garcia, NR., 2015). Asimismo, dio gran importancia a la colaboración con científicos que le ayudarían a mejorar la calidad de sus materiales, como el caso de la colaboración con el químico Otto Schott, que tenía como objetivo producir un mejor tipo de vidrio óptico que sería clave para la producción de lentes apocromáticas en la década de 1880, con las cuales se corrigieron en gran medida aberraciones cromáticas y esféricas, comunes en gran parte de las lentes acromáticas.

Zeiss, ya consolidada como empresa líder en el desarrollo de microscopios, por encomienda de Abbe, empleó a académicos en el desarrollo de productos desde 1879 en adelante, dando pie a la "escuela Abbe". Hermann Ambronn, Henry Siedentopf y August Köhler, fueron algunos de los participantes de esta "escuela" que están asociados con importantes avances en el desarrollo técnico de la microscopía.



Figura 6. Aportaciones de Abbe a la microscopía óptica. En la imagen izquierda superior se muestran algunos de los primeros objetivos de inmersión. En la parte inferior muestras de fluorita natural y artificial utilizada para mejorar la calidad del vidrio de la lente. Microscopio con soporte inclinado y con sistema integrado de movimiento micrométrico, 1882. Imágenes tomadas de *Innovation 15.*, 2005; *Wimmer, 2017*

### **iii) Una nueva etapa en la microscopia / Ernst Ruska y los inicios de la microscopía electrónica**

En 1878 Ernst Abbe probó que la resolución de un microscopio óptico está limitada por la longitud de onda de la luz empleada, lo que resultaba que aún utilizando luz inmersa y longitudes de onda de luz UV los detalles más pequeños que podían ser observado estaban resueltos ópticamente en el orden de 100 nm.

Sin embargo, el estudio de los fenómenos físicos continuó teniendo grandes avances y hubo a principios del siglo XX dos grandes descubrimientos que de una forma significativa lo cambiarían todo. Estos descubrimientos fueron:

1. Las propiedades de onda que tenía el movimiento de electrones, postulado por De Broglie en 1924.
2. El descubrimiento por Hans Busch entre 1926-1927 de la analogía entre el efecto de una lente magnética sobre un haz de electrones y el efecto de una lente convexa sobre un haz de luz.

El primer microscopio electrónico (Fig.7) fue construido y mostrado al público en 1931 por Max Knoll y Ernst Ruska, quienes trabajaban en el Laboratorio de Alta Tensión de la Universidad Técnica, en Berlín (Freundlich M. M., 1963). Para 1933, el microscopio electrónico de transmisión, fue mucho más potente, haciendo pasar electrones a través de una película delgada del espécimen a estudiar, los cuales fueron difractados a una película fotográfica emulsionada dentro de una cámara de fluorescencia, generando una imagen de magnitudes elevadas, siendo capaz de magnificar especímenes hasta 10 veces más que un microscopio de luz contemporáneo. Ruska fue galardonado con el premio nobel en 1986, el comité describió su microscopio electrónico como uno de las innovaciones más importantes del siglo XX (Varano C., 2022).



## **b) Una sorprendente maquinaria molecular: el ribosoma**

Los ribosomas son máquinas moleculares de tamaño y complejidad notable, encargadas de traducir la información genética que lleva el RNA mensajero (mRNA) templado para producir todas las proteínas que la célula necesita mediante un proceso bioquímico altamente regulado. Este complejo molecular en eucariontes es de 80S y está compuesto de dos subunidades desiguales que son universalmente conservadas.

En organismos eucariontes, los ribosomas contienen cuatro moléculas de RNA ribosomal (rRNA) y aproximadamente 80 proteínas (proteínas-r). La subunidad pequeña 40S (SSU) tiene una molécula 18S de rRNA y 33 proteínas-r (RPS). La subunidad grande 60S (LSU) está compuesta a su vez por los rRNA 25S (en células vegetales) / 28S (en mamíferos), 5.8S y 5S, y 47 proteínas-r (RPL). Tanto las moléculas de rRNA como las proteínas ribosomales son modificadas co- o post-transcripcionalmente para el caso del rRNA y postraduccionalmente para las Rps. A pesar de que las subunidades comparten una morfología común en procariontes y en eucariontes, en estos últimos la maquinaria es más grande y compleja. Además se conoce que la proporción de rRNA con respecto a todo el complejo molecular presenta diferencias entre ribosomas de organismos procariontes y ribosomas de organismos eucariontes, teniendo estos últimos hasta un 65% de rRNA (en todo el complejo ribosomal), a diferencia del 35% de rRNA cuantificado en los ribosomas procariontes (Nerurkar, P. et al., 2015; Kressler, D., Hurt, E., y Baßler, J., 2017; Baßler, J., y Hurt, E., 2019; Gilbert WV., 2010).

## **i) El descubrimiento y desarrollo en la investigación científica**

Los ribosomas fueron descubiertos en la década de 1950 por George E. Palade quien desarrolló algunas de las primeras técnicas de microscopía electrónica para la observación de material biológico. Palade en sus observaciones encontró pequeñas partículas (Fig. 8) que estaban en el citosol de la célula y asociados al retículo endoplásmico a las que denominó en un principio como gránulos densos (Genuth NR y Barna M, 2018), como se muestra en la Figura 8. Después se determinó que esas pequeñas estructuras semiesféricas se componían tanto de proteínas como de RNA y participaban en la síntesis de proteínas de la célula.

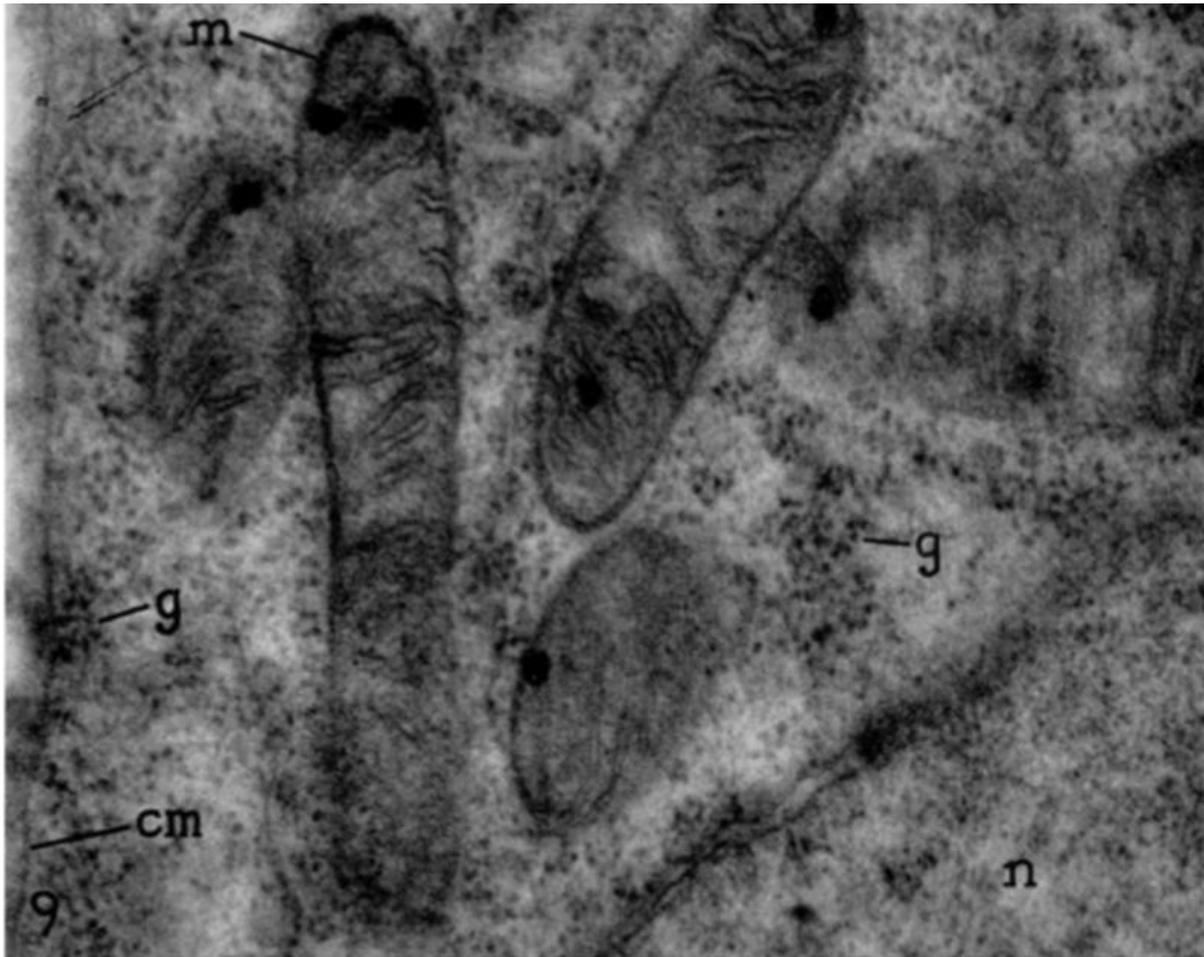


Figura 8. Gránulos densos (Gránulos de Palade). Estructura fina de célula epitelial del intestino (Yeyuno) de rata. Es una de la imágenes obtenidas mediante técnicas de microscopía electrónica que presentó George Palade a mediados de la década de 1950, donde describe la presencia de “gránulos densos” (g) en el citoplasma, después descritos como microsomas y conocidos en la actualidad como ribosomas. Imagen tomada de *Palade GE., 1955*

Poco a poco diferentes grupos de investigación fueron estableciendo algunos hechos: el ribosoma es una enzima similar a una polimerasa capaz de catalizar la síntesis de proteínas; está compuesta de dos subunidades ribonucleoproteicas asimétricas; tiene como sustrato moléculas de RNA de transferencia (tRNA) unidos a los diferentes aminoácidos (aminoacil - tRNAs); la formación del enlace peptídico se cataliza en la subunidad grande; las secuencias de proteínas que toma son determinadas por la interacción entre los anti-codones del tRNA y los codones del mRNA, en la subunidad menor (Steitz TA y Moore PB, 2017; Moore PB, 2009; Genuth NR y Barna M, 2018). Por lo tanto, entre los años de 1960 - 1970, la investigación del ribosoma se abordó principalmente en el campo de la biología molecular que dio luz sobre su composición molecular y su función.

La estructura del ribosoma fue una gran interrogante en el área de la biología estructural y celular que se empezó a abordar desde el campo de la cristalografía en la década de 1980 en diferentes laboratorios, obteniendo datos mediante técnicas de difracción de rayos x que permitieron comenzar a generar reconstrucciones cada vez más precisas de la estructura tridimensional, la organización y disposición de algunos dominios importantes, la forma de sus subunidades y el ensamblado de éstas para dar inicio a la síntesis de proteínas (Moore PB, 2009). En la actualidad la investigación que se ha realizado sugiere que el ribosoma, contrario a lo que se pensaba de él como una estructura pasiva y determinada, es un complejo molecular altamente dinámico con roles de traducción “especializada” en la célula.

## ii) Estructura y función

Desde hace mucho se sabe en el área de ciencias biológicas que la funcionalidad o fisiología de moléculas, células, tejidos, está intrínsecamente relacionada con su forma o estructura (Michael J., 2021), y el ribosoma, como una macromolécula compleja, no es la excepción.

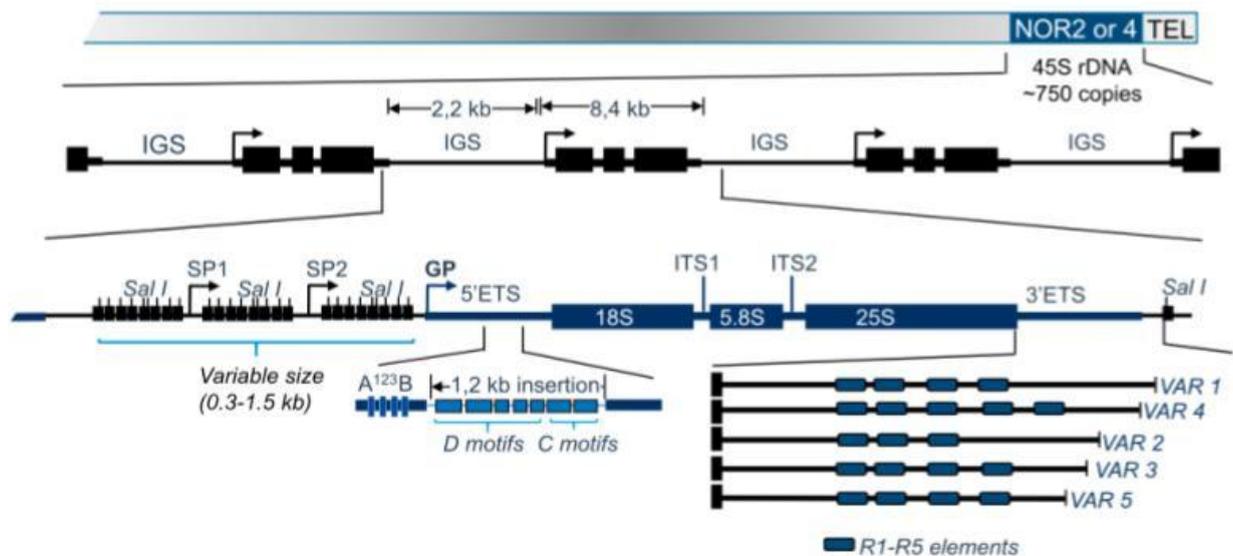


Figura 9. Organización y estructura de los genes ribosomales. En *Arabidopsis* (modelo de estudio en plantas) estos genes se encuentran en los cromosomas 2 y 4, formando las Regiones Organizadoras Nucleolares (NORs), y su estructura corresponde a una secuencia de rDNA 45S de alrededor de 8,4 kb repetida en tándem, donde se encuentran codificadas las secuencias que darán lugar a las moléculas de rRNA 18S, 5.8S y 25S. Imagen tomada de Saez-Vasquez & Delseny, 2019

Existe una organización desde el nivel genético de la información que dará lugar al “esqueleto” del ribosoma, a las 4 moléculas de rRNA que componen las subunidades ribosomales como se muestra en la figura 9. Los genomas en plantas contienen cientos de miles de genes que codifican para la molécula de rRNA 45S. Se ha reportado que en *Arabidopsis*, su genoma presenta alrededor de 750 copias de la unidad repetida de DNA ribosomal (rDNA) 45S, en arreglos tipo tandem en los cromosomas 2 y 4, que corresponden a las Regiones de los Organizadores Nucleolares (NOR, por sus siglas en inglés). El transcrito resultante del rDNA 45S tiene un aproximado de 8.4 kb de longitud, obteniendo a las secuencias de rRNA 18S (1800 pb), 5.8S (161 pb) y 25S (3376 pb) que se encuentran separadas por Espaciadores de Transcrito Internos (ITS1 e ITS2) y flanqueados por Espaciadores de transcrito Externos (5' ETS y 3'ETS) (Saez-Vasquez y Delseny, 2019).

Como parte de un siguiente nivel estructural, se han realizado reconstrucciones mediante modelos computacionales de la estructura secundaria del rRNA que conforma las subunidades ribosomales. Estas reconstrucciones son importantes para entender la estructura general de los ribosomas, las representaciones simbólicas de los pares de bases, formación de dobles hélices, secciones de hebras simples y otras estructuras que se pueden formar como producto de la interacción entre las mismas moléculas de rRNA, como bucles y protuberancias, proveen un marco general para entender algunas otras particularidades de su conformación tridimensional, posterior plegamiento y función del rRNA dentro del ribosoma (Petrov et al., 2014).

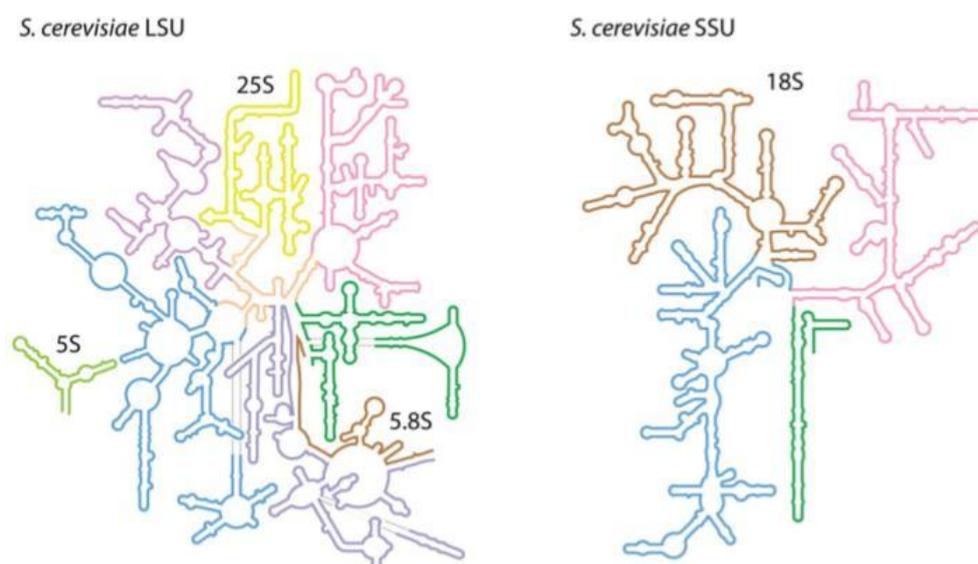


Figura 10. Estructura secundaria de moléculas de rRNA en *Saccharomyces cerevisiae*. El esquema muestra una reconstrucción de la estructura secundaria de las 4 moléculas de rRNA 25S, 5S y 5.8S para la LSU y 18S para la SSU. La reconstrucción se basó en datos del PDB (Protein Data Bank) para una reconstrucción tridimensional. Imagen tomada de *Petrov et al., 2014*

Por último se puede mencionar un siguiente nivel estructural con respecto al ribosoma que ha tenido un gran desarrollo en las últimas décadas gracias a técnicas avanzadas de microscopía, como la criomicroscopía electrónica y la difracción de rayos x, con lo cual se han recolectado datos para hacer reconstrucciones tridimensionales, y generado un gran avance en el entendimiento de sus componentes.

De estas primeras reconstrucciones, por ejemplo, se han revelado estructuras morfológicas del ribosoma, como la protuberancia central y los tallos L1 y L7/L12 en la subunidad 50S (en procariontes, 60S en eucariontes). Además se han realizado mapas de alta resolución, casi atómica, con los cuales se ha adentrado la investigación en las diferentes etapas de la síntesis de proteína en un nivel de resolución que no se había alcanzado antes.

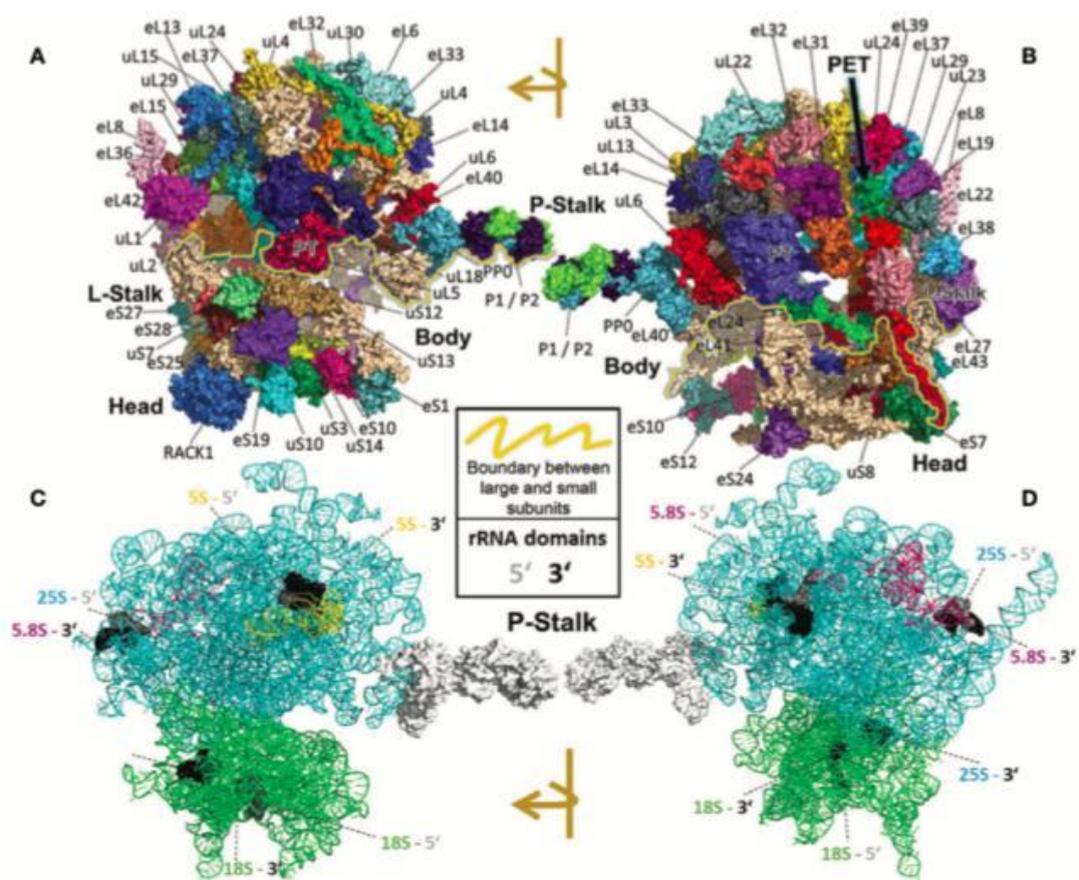


Figura 11. Reconstrucción tridimensional del ribosoma eucarionte. Hecha con datos obtenidos con técnicas de criomicroscopía electrónica logrando una resolución de detalle de 5.5 Å. A) y B) Se observan algunas de los componentes morfológicos en un ribosoma completamente ensamblado con sus proteínas. C) y D) Muestran la estructura terciaria dentro de las subunidades ribosomales de las diferentes moléculas de rRNA que lo componen. Imagen tomada de Saez-Vasquez & Delseny, 2019

Gracias a toda la investigación sobre el ribosoma que se ha realizado desde que éste fue descubierto, se ha generado información que relaciona fuertemente su estructura y su función en la traducción de proteínas. La conversión de la información contenida en una molécula de mRNA en una cadena polipeptídica se conoce como traducción, y se divide en tres partes: iniciación, elongación y terminación.

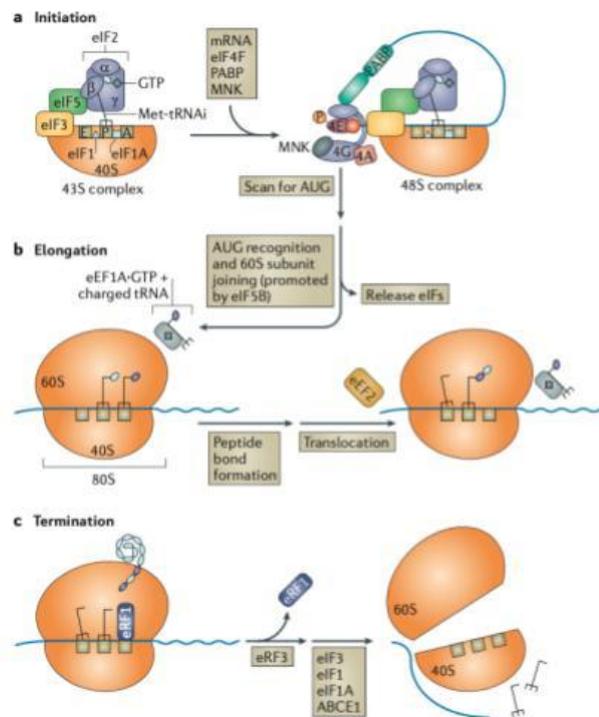


Figura 12. Mecanismo de traducción en células eucariontes. Para este procesamiento por parte de los ribosomas se han descrito 3 fases: Iniciación, Elongación, y Terminación. En el esquema representativo de estas fases se muestran algunos de las proteínas y factores involucrados en cada fase de la traducción. Imagen tomada de Walsh & Mohr., 2011

La *Iniciación* requiere de la participación de 9 factores de iniciación (eIFs) y de factores auxiliares. Este proceso se divide en 2 puntos: a) la formación de un complejo de iniciación 48S, donde se lleva a cabo el reconocimiento del codón de inicio con el anticodón del tRNA iniciador en el sitio P de la subunidad ribosomal 40S (subunidad pequeña) y b) el acoplamiento del complejo 48S con la subunidad 60S (subunidad mayor). Se debe resaltar la importancia de la molécula de tRNA iniciadora, pues se ha observado que necesita interactuar directamente con eIFs, además de reconocer y unirse directamente al sitio P en la subunidad ribosomal pequeña, lo cual ayuda al reconocimiento correcto del codón de inicio en el mRNA.

Para este reconocimiento del codón de inicio (AUG), en eucariontes intervienen algunas estructuras secundarias de RNA y proteínas reguladoras. Además se acepta que existe una secuencia de reconocimiento conocida como secuencia Kozak (GCCA/GCCAUGG). La subunidad pequeña se une primero a la región proximal del cap 5', y sigue con un escaneo a lo largo de la molécula de mRNA hasta encontrar el codón de inicio. Por otra parte, la unión de las subunidades ribosomales requiere la interacción entre las superficies de ambas subunidades ribosomales, para lo cual, la subunidad pequeña necesita liberar algunos de los factores de iniciación utilizados en el punto previo. Esta disociación de los factores de iniciación es promovida por proteínas G conservadas (IF2 y eIF5B).

La *Elongación* se lleva a cabo un ciclo formado por tres puntos principales, que son la

decodificación del codón en la secuencia del mRNA, la formación del enlace peptídico y la translocación como se muestra en la figura. Éste proceso se torna en un ciclo que se repite hasta que el ribosoma encuentra un codón de término (UAA, UAG o UGA) en la secuencia del mRNA, lo que delimita la fase final en la síntesis de la proteína y es justamente la fase correspondiente a la *Terminación* de la traducción. El codón de término induce el reclutamiento del factor de liberación, conocido como eRF1, el cual provoca una hidrólisis del enlace estérico entre el sitio P y la molécula de tRNA-peptidil, resultando en la liberación de la cadena peptídica y en una disociación de las subunidades ribosomales.

El ribosoma no posee una estructura o composición constante. En los últimos años se ha demostrado la heterogeneidad de los ribosomas, donde éstos pueden ser alterados estequiométricamente o en su composición y donde las proteínas ribosomales (PRs) tienen también un amplio rango de modificaciones post traduccionales (PTM) que en teoría no solo sirven para modular las interacciones específicas, sino también para reclutar factores accesorios que pueden reconocer estas proteínas modificadas proveyendo funcionalidad y regulación (Emmott E., Jovanovic M y Slavov N., 2019).

### **iii) El nucléolo y la biogénesis**

El nucléolo es una subestructura nuclear altamente dinámica, cuya importancia principal radica en que es el compartimento donde se lleva a cabo la transcripción de la molécula 45S de rDNA. Ahí la RNA Polimerasa 1 (RNAP1) se asocia con factores generales de transcripción (GTFs por sus siglas en inglés) para la formación de una holoenzima funcional específica e iniciar la transcripción del rDNA (Saez-Vasquez y Delseny, 2019; Chen D y Huang S., 2001; Carmo-Fonseca M., 2015). También se reconoce que esta estructura concentra una gran cantidad de proteínas (y en la mayoría de casos tienen RNA) presumiblemente para mejorar la eficiencia de reacción y facilitar la regulación en la transcripción del rDNA (Wah Lam Y y Trinkle-Mulcahy L., 2015).

La biogénesis de los ribosomas involucra la síntesis de rRNA, maduración y ensamblaje del rRNA y las proteínas ribosomales en una subunidad ribosomal grande y una subunidad pequeña, proceso regulado a través del ciclo celular, primariamente a nivel de síntesis de rRNA. Los picos de transcripción de rDNA durante las fases S y G2 se detienen cuando la célula entra en mitosis y son reactivados cuando sale de ésta (Chen D y Huang S., 2001).

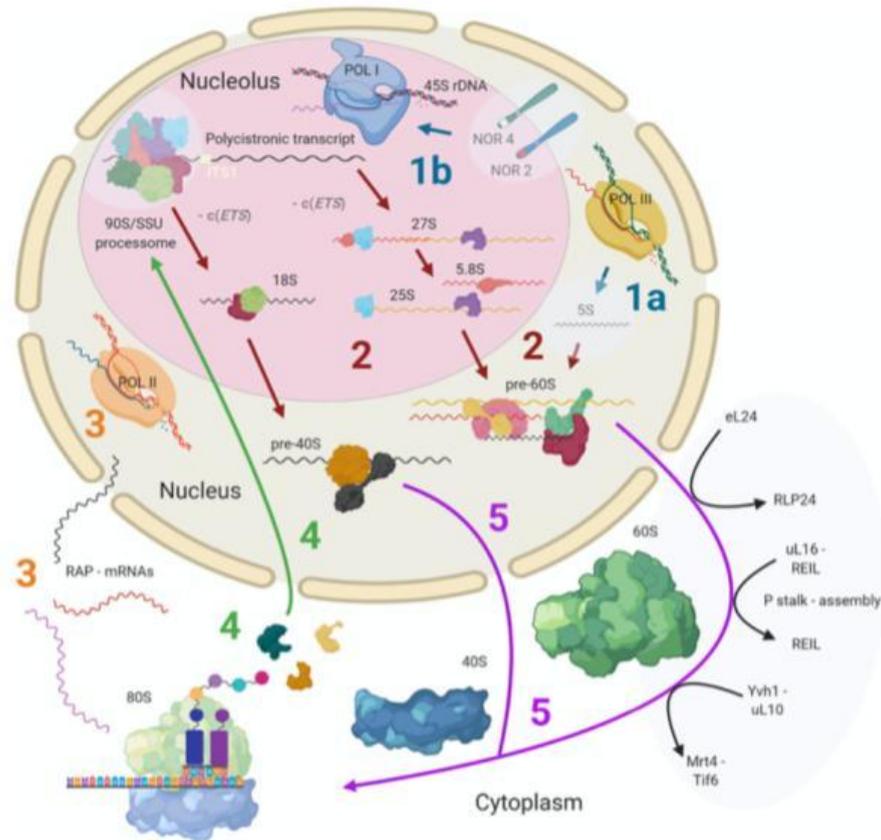


Figura 13. Biogénesis de las subunidades ribosomales en eucariontes. Imagen tomada de Saez-Vasquez & Delseny, 2019

Energéticamente hablando, la biogénesis del ribosoma es un proceso altamente costoso para la célula y altamente regulado. No solamente están involucradas la síntesis del rRNA, la transcripción de proteínas ribosomales, su traducción e importación nuclear, también lo está el ensamblaje del ribosoma, el cual es un proceso muy controlado. Estos eventos se encuentran coordinados a su vez con otros procesos celulares, como la división y la diferenciación. Además la biogénesis de los ribosomas puede tener respuestas ambientales rápidas, mediadas por receptores de la célula internos y de superficie, o por estrés (Piazzi M., et al., 2019). Actualmente se conoce que la regulación nucleolar es compleja pues este organelo tiene un papel central al interior de la célula, como un centro de control que coordina el crecimiento celular y la proliferación con señales metabólicas y de estrés (Wah Lam Y y Trinkle-Mulcahy L., 2015).

#### iv) Mitocondria y sus mitorribosomas

Además de su rol en el metabolismo para la producción de energía, la mitocondria interviene en diferentes procesos celulares, como el envejecimiento y la apoptosis. Además, la mitocondria mantiene su propio genoma reducido y del mismo modo su propia maquinaria para la síntesis proteica de sus pocos genes. Estos ribosomas son generalmente conocidos como mitorribosomas. Al menos en humanos se ha descrito que estos mitorribosomas son los responsables de sintetizar 13 subunidades altamente hidrofóbicas de los complejos de la fosforilación oxidativa. A pesar de que se reconoce que estos mitorribosomas son derivados evolutivamente de ribosomas bacterianos, presentan a su vez fuertes divergencias en términos de composición, función y estructura, pues se han vuelto específicos para la traducción de proteínas mitocondriales que de forma general son proteínas de membrana y componentes hidrofóbicos especializados para la formación de los complejos involucrados en la cadena respiratoria mitocondrial. Se ha visto en algunos mitorribosomas que sus moléculas de rRNA se han reducido a un núcleo interior que se encuentra rodeado estrechamente por proteínas mitocondriales. De las proteínas que conforman la cubierta de los mitorribosomas 55S(82 proteínas) 36 de éstas son específicas de mitocondrias, 22 en la subunidad mayor y 14 en la subunidad menor. (Liere, K., Weihe, A., y Börner, T., 2011; Kumar Saini, A y Kumar, V., 2021)

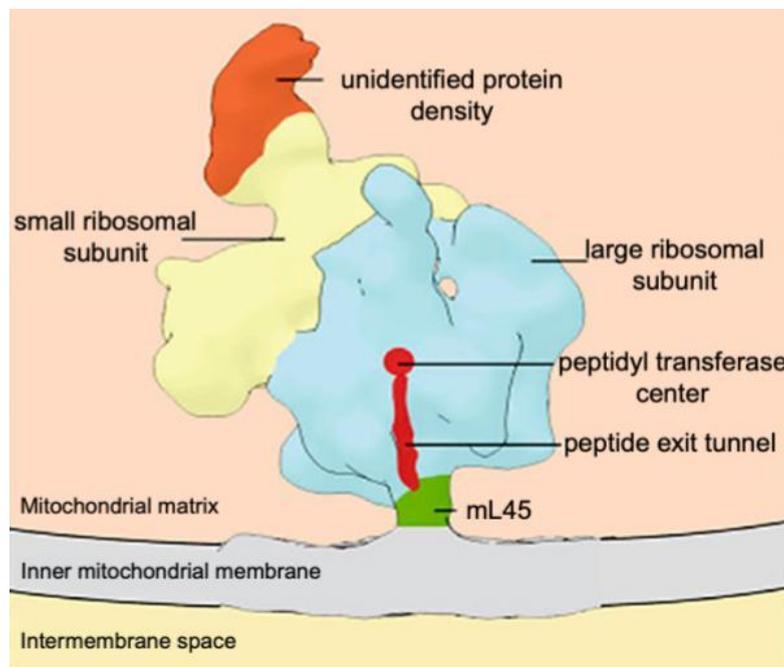


Figura 14. Ribosoma mitocondrial (Esquema representativo en humanos). Imagen tomada del libro: *Emerging Concepts in Ribosome Structure, Biogenesis, and Function. Ch. 2; Kumar Saini, A & Kumar, V. (2021)*

### c) El Teocintle y la domesticación del maíz

El proceso de domesticación de alguna especie (animal o vegetal) es sin duda de los fenómenos más sorprendentes en la biología, muestran de forma más o menos clara los efectos que tiene la intervención de una especie sobre otra en un tiempo generacional extenso y nos ofrece un parteaguas del funcionamiento de la evolución como proceso de cambio y adaptación de una especie. Charles Darwin vislumbraba este proceso de domesticación como prueba de uno de los principales mecanismos de evolución, pues se inspiró en especies domesticadas para ilustrar la variación genética y el poder de la selección artificial (Gottlieb TM., Wade MJ y Rutherford SL, 2002; Meyer RS y Purugganan MD., 2013).

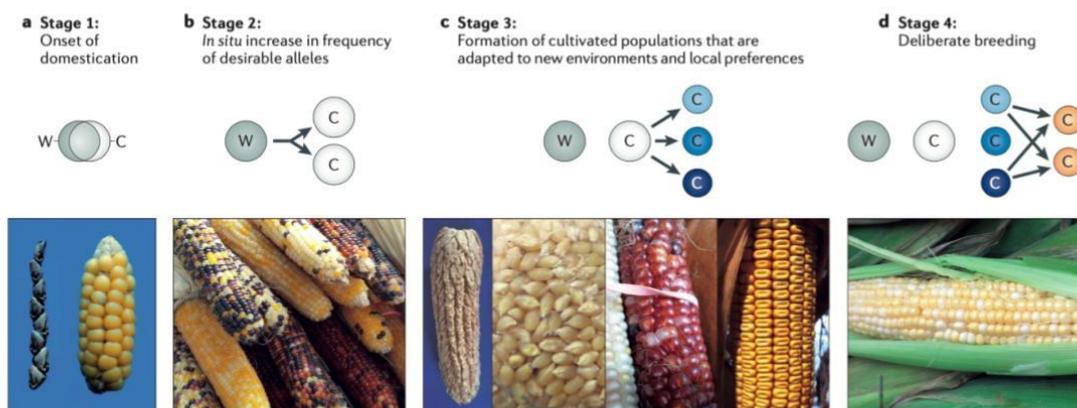


Figura 15. Proceso de domesticación y diversificación en plantas. La figura muestra de forma esquemática las etapas evolutivas de una planta domesticada. Después del desarrollo y establecimiento del cultivo se produce una selección (artificial) que induce el inicio de la domesticación (Etapa 1). Después de la Etapa 1 hay una fase de diversificación de cultivos donde existe una amplificación in situ de poblaciones con alelos deseables que conducen a incrementos iniciales en el rendimiento, así como también a la selección de fenotipos de cultivo favorables. A medida que los cultivos domesticados evolucionan y se extienden desde su rango geográfico inicial (Etapa 3), las poblaciones de cultivos se adaptan a nuevos entornos diversificados y preferencias locales. La etapa 4 es el mejoramiento deliberado de variedades de cultivos para maximizar el rendimiento, la facilidad de cultivo, la uniformidad y la calidad. Imagen tomada de Meyer RS & Purugganan MD., 2013

Dentro de las investigaciones que se han realizado se reconoce que la domesticación de plantas cuyo proceso está asociado al hombre tuvo sus inicios hace aproximadamente 12000 años en Medio Oriente y en diferentes partes del mundo: China, Mesoamérica, los Andes (todos con una datación aproximada de 10,000 años), África subsahariana (hace 8000 años aprox.) y el este de América del Norte (6000 años atrás) (Meyer RS y Purugganan MD., 2013). Este proceso de domesticación, aunque no es exclusivo de los humanos (como domesticadores), ha tenido grandes repercusiones en su propia historia desde el establecimiento de las primeras sociedades agrícolas “fundadas” a la par del cultivo de un grano de interés, casi exclusivo a cada civilización que se desarrollaría a partir de ahí.

A pesar de que el maíz fue un grano ampliamente utilizado en el continente americano desde Canadá hasta Chile, y formaba la base de la alimentación de todas las culturas que estaban establecidas en éste continente, representó un hallazgo sorprendente para aquellos exploradores que viajaban al “nuevo mundo” a finales del siglo XV y principios del siglo XVI, pues este grano no se conocía en ninguna parte de Europa y Asia. Aun así se reporta que cuando estos exploradores regresaron con este grano bastaron unas pocas generaciones para que este se convirtiera en un cultivo ampliamente extendido a nivel global. Decenas de años después empezaron a surgir preguntas con respecto a su origen, y fue Augustin P. de Candolle quien ofreció un primer acercamiento en 1855 con la publicación de: «El Origen de las Plantas Cultivadas », donde expuso la idea de que su centro de origen se encontraba en algún lugar del continente americano (Mangelsdorf PC., 1983).

Actualmente nuestra comprensión con respecto a las diferencias morfológicas y moleculares entre los organismos modificados y sus ancestros silvestres se basa casi exclusivamente en los representantes vivos pertenecientes al mismo taxón, y es por eso que la mayor parte de lo que se conoce respecto a la domesticación del maíz se ha logrado obtener al comparar plantas cultivadas y plantas silvestres que aún hoy en día existen. De esta forma, en la actualidad se reconoce que el antepasado directo del maíz es una hierba silvestre conocida como teocintle.

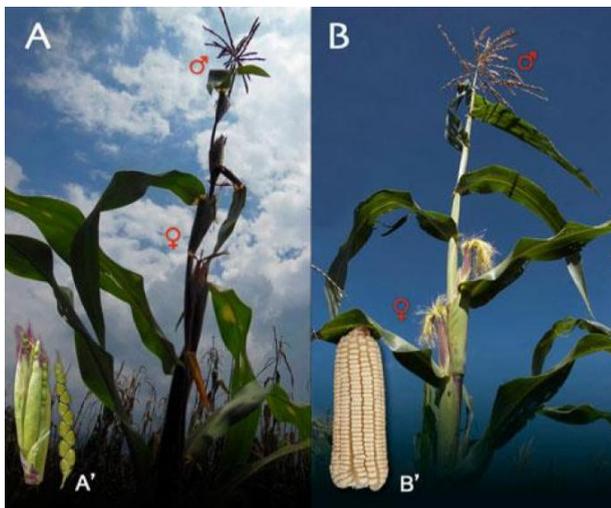


Figura 16. Comparación morfológica entre *Zea perennis* (teocintle) y maíz. A y A'. Planta de teocintle y su infrutescencia dística; B y B'. Planta de maíz y estructura polística (mazorca). Estructuras masculinas (♂) y femeninas (♀). Fuente: CONABIO

Tomando en cuenta que el tiempo de aparición del maíz ha sido relativamente corto (entre 7,000 y 10,000 años) las morfologías entre maíz y teocintle son muy diferentes (Figura 16). Las plantas de teocintle suelen tener múltiples ramas alargadas, cada una de éstas con múltiples orejas a lo largo de su longitud y orlas en la punta. Además puede tener largas ramas laterales rematadas en panojas (inflorescencias masculinas) y ramas secundarias con mazorcas (inflorescencias

femeninas) con unas pocas semillas pequeñas cubiertas por frutos duros que maduran secuencialmente durante un período de unos pocos meses, siendo característico como producto varios cientos de mazorcas, de las cuales cada una tiene en promedio diez granos. Las plantas de maíz por el contrario presentan un solo tallo principal que termina en

una espiga y pocas ramas laterales dramáticamente acortadas que terminan en mazorcas en lugar de espigas, aunque éstas presentan varios cientos de granos. Estas diferencias en su arquitectura, crecimiento y tamaño de la mazorca han sido relacionadas con las diferentes estrategias reproductivas que cada planta ha adoptado ya sea por selección natural en el caso del teocintle, o por selección artificial (domesticación) que ha sufrido el maíz (Yang CJ., Doebley JF, et al., 2019).

Se han realizado múltiples estudios para intentar determinar el origen del maíz y en el proceso también parte de su historia evolutiva. Esto ha implicado múltiples análisis que no solamente corresponden al área biológica, también ha incluido a la antropología y la arqueología. Mediante estudios de genética de poblaciones se revela evidencia de una selección en múltiples regiones genómicas, un cuello de botella moderado y un flujo de genes posterior a la domesticación del teocintle al maíz, la cual aparentemente mejoró la adaptación del maíz a diversos ambientes. Uno de los más importantes resultados de esta investigación es la demostración de que todas las variedades de maíz moderno están genéticamente relacionadas entre sí, y a *Z. mays ssp. parviglumis* más que cualquier otra subespecie de *Zea*. La proximidad filogenética entre todas las variedades modernas de maíz y *ssp. parviglumis* apoya la hipótesis de que esta subespecie es la progenitora del maíz (Hart JP., Matson RG., Thompson RG y Blake M., 2011)

Han existido diversas hipótesis con respecto a la genética responsable de las principales diferencias en la arquitectura vegetativa y sexual de las inflorescencias entre el maíz y el teocintle. Por mucho tiempo se dudó si realmente el teocintle era el familiar más cercano a las actuales variedades de maíz, hasta los experimentos de George Beadle, que mostraron la íntima relación que existe entre el maíz y el teocintle. Ahora se sabe que estas dos plantas comparten el mismo número y arreglo de sus cromosomas, y que pueden hibridarse entre sí dando como resultados en su generación F1 algunos fenotipos intermedios que son variables y que se aproximan a lo que se cree, pudieron ser variedades primitivas de maíz.

Existe también una cantidad considerable de evidencia que sugiere que gran parte de la evolución durante la domesticación fue de naturaleza reguladora. Los genes que muestran evidencia de selección no sólo muestran cambios direccionales en la expresión, también muchas de las redes de transcripción y co-expresión del maíz se han modificado sustancialmente durante la domesticación.

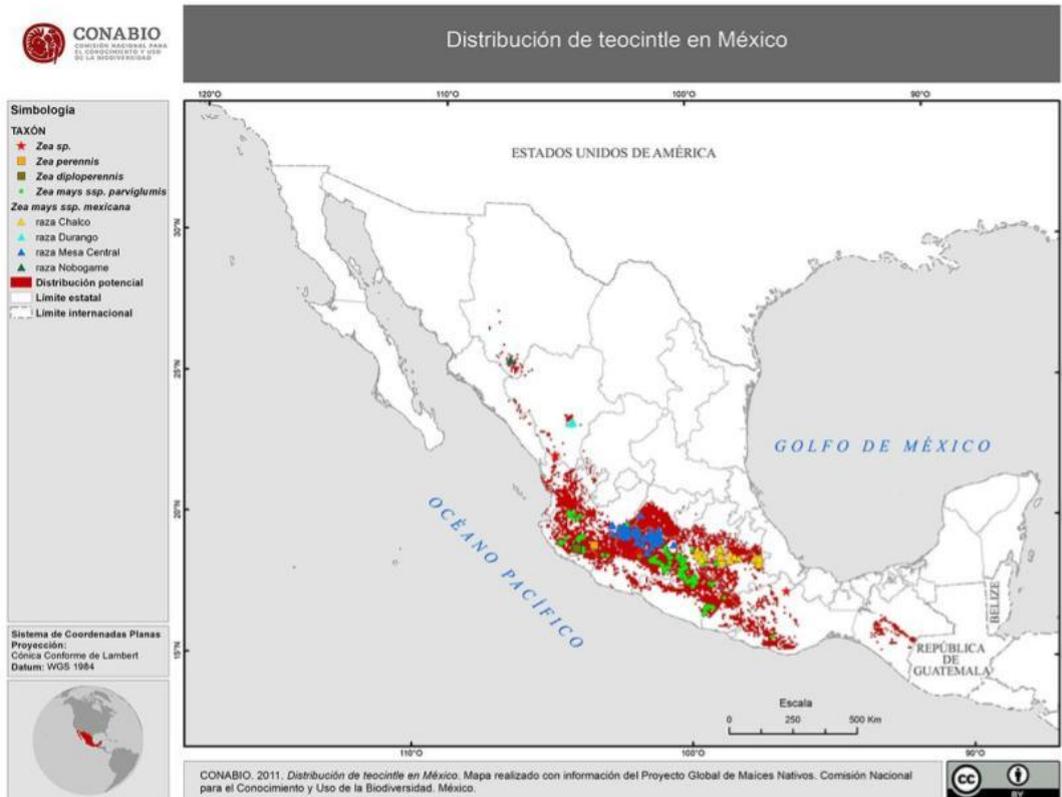


Figura 17. Distribución de las diferentes variedades de teocintle en México. Fuente: CONABIO

Existen consideraciones más recientes con respecto a la domesticación del maíz en donde empiezan a ser tomados en cuenta los efectos de las condiciones ambientales durante el periodo de evolución de los cultivos, pues probablemente tuvieron un profundo impacto en ellos. Ahora se conoce que cuando la agricultura empezó a formar parte de las actividades humanas, el periodo en que se desarrolló fue de cambios ambientales profundos a nivel global, pues el Pleistoceno estaba terminando y existía una transición hacia el periodo interglaciar del Holoceno temprano (entre 11 y 9 mil años atrás).

Actualmente se tiene en consideración que algunos de los cambios en el nivel de expresión de ciertos genes del teocintle, pudieron haber constituido una respuesta plástica de forma inicial con respecto al entorno cambiante en el momento de la domesticación (Lorant A., Ross-Ibarra J, et al., 2017). Se reconoce que el sistema maíz - teocintle continúa siendo uno de los modelos mejor definidos para la entender la evolución morfológica rápida a través de una herencia casi mendeliana. Los experimentos modernos de mapeo de rasgos cuantitativos identifican repetidamente 4 o 5 regiones cromosómicas que representan la mayor parte de la varianza de los rasgos clave que distinguen al maíz del teocintle. Además, no es sorprendente que muchas diferencias morfológicas clave entre el maíz y el teocintle afecten directamente la utilidad de éste como planta de cultivo en relación con los

granos del teocintle.

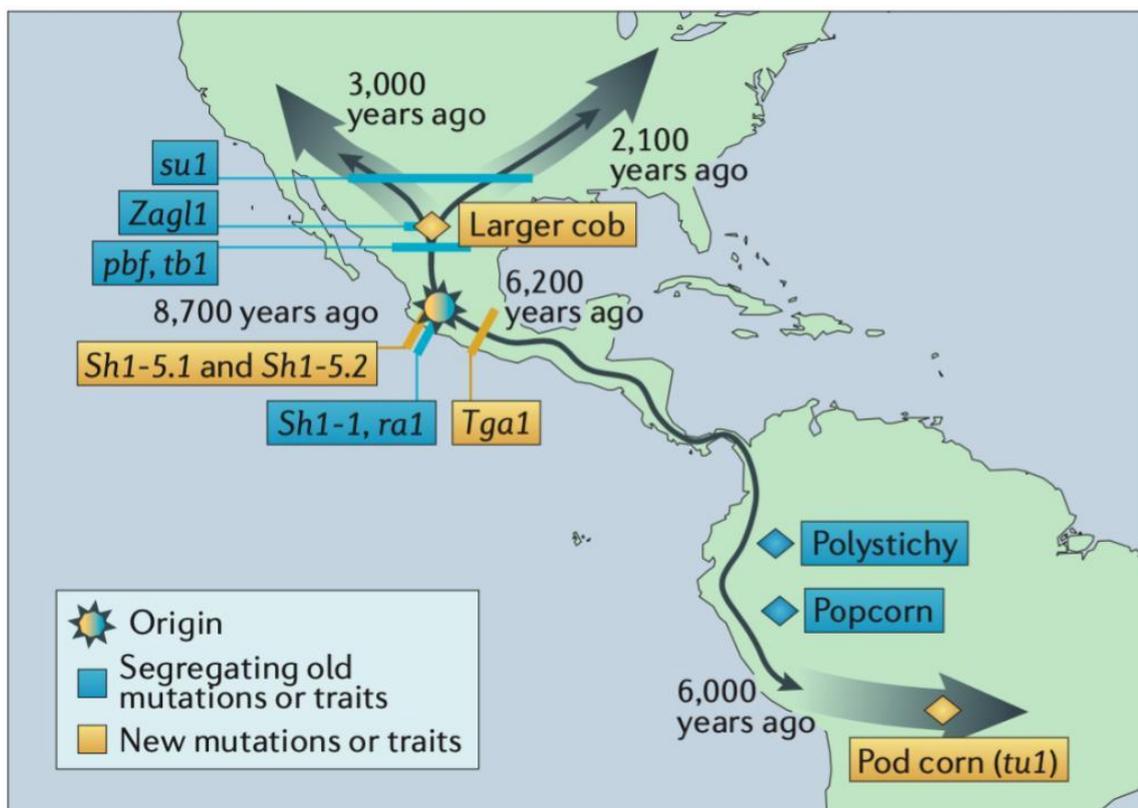


Figura 18. Principales haplotipos ancestrales y su propagación en el proceso de domesticación del maíz. Imagen tomada de Meyer RS & Purugganan MD., 2013.

Unos pocos alelos con efectos morfológicos importantes probablemente fueron críticos para la rápida evolución del maíz bajo domesticación. Sin embargo, una vez que la selección humana introdujera una mutación importante (como *tb1*) en la población, podría expresarse una reserva de variación previamente críptica, lo que permitiría que la selección estuviera a favor de aquellos alelos que promueven la estabilidad de las características beneficiosas para la agricultura. Estudios recientes sugieren que la arquitectura genética de la domesticación del maíz puede, de hecho, ser similar a la de las poblaciones nativas bajo selección natural para adaptarse a un nuevo nicho ecológico.

La comparación de secuencias proporciona evidencia de la selección para la fijación de un cambio regulatorio putativo en el promotor *tb1* del maíz y, de hecho, los niveles de estado estacionario de RNA *tb1* son más altos en el maíz que en el teocintle. El gen *tb1* comparte regiones de homología con una familia de reguladores transcripcionales de la morfología de las plantas. En el maíz, los niveles relativos elevados de RNA *tb1* se asocian con una reducción del tamaño de las ramas y la determinación del sexo de la inflorescencia (mazorca frente a panoja), por lo tanto un modelo plausible es que el crecimiento de las

ramas y la identidad están determinados por umbrales sensibles a los niveles de *tb1*, y que una sola mutación reguladora rara en *tb1* pudo inducir el cambio dramático en la morfología del teocintle que se seleccionó durante la domesticación del maíz (Gottlieb TM., Wade MJ y Rutherford SL., 2002). Otro evento significativo en el proceso de domesticación fue el cambio en la expresión de *tga1*, que permitió que la cubierta fructífera sellada y endurecida del teocintle se abriera, permitiera un grano desnudo y formará una gluma menos lignificada y más suave. Aunque se supone que el teosinte fue un recurso importante a medida que se convirtió en maíz, actualmente es casi invisible en el registro arqueológico (Hart JP., Matson RG., Thompson RG y Blake M., 2011).

Como factores en el proceso evolutivo de una especie, se sugiere que los híbridos entre especies “cercanas” pueden revelar una variación oculta que es fundamental para los rasgos cualitativos, y describe cómo los efectos de los alelos podrían cambiar de neutrales en una población a esenciales para otra. En este caso en particular tiene sentido que la recombinación continua bajo el control de la selección natural da como resultado la segregación de las combinaciones de genes más viables (los picos adaptativos de Sewall Wright), en las que el papel dominante siempre lo ejercen mutaciones fisiológicas diminutas cuyo efecto de estas combinaciones de genes es no aditivo, es más bien cualitativo (Gottlieb TM., Wade MJ y Rutherford SL., 2002).

## Justificación

México es considerado el centro de origen del maíz (*Zea mays*). Se han reportado alrededor de 64 variedades que se han adaptado a las diversas condiciones ambientales y sistemas de cultivo adoptados, que tienen una gran importancia biológica, cultural y económica en el país y el resto del mundo, pues representan el 60% de las variedades de maíz conocidas. Actualmente se tiene conocimiento que todas estas variedades de maíz son resultado de un proceso de domesticación que tiene aproximadamente 10,000 años de haber iniciado, y que continúa hoy en día. Actualmente, se reconoce al teocintle (*Zea perennis*) como el pariente vivo más cercano filogenéticamente a *Zea mays* y todas sus variedades, por lo tanto la importancia desde un punto de vista biológico de esta planta silvestre es muy grande. A pesar de que hay información sobre la genética, ecología y los nichos que ocupa y ocupó *Zea perennis* en territorio mexicano, existe un vacío en la literatura con respecto a su ultraestructura celular, que ofrece una ventana a la organización y arquitectura de los organelos prominentes a una escala micro y nanométrica.

## Planteamiento del problema

Diversos grupos de investigación enfocados en el estudio del ribosoma han reportado el rol central de esta pequeña maquinaria en la expresión del material genético. Es una maquinaria molecular altamente conservada en todos los organismos, con algunas diferencias estructurales entre los dominios y reinos del sistema de clasificación de los seres vivos, como producto de procesos macroevolutivos, por lo que se le considera un buen objeto de estudio en el que sus cambios estructurales reflejarían parte de la historia evolutiva de los organismos.

Dado que el teocintle es el pariente silvestre del maíz, se optó por su uso como modelo de estudio por la sugerente oportunidad de encontrar algunas variaciones finas en un nivel ultraestructural que pudiera ser producto de un tiempo en escala evolutiva relativamente corto (aproximadamente 10,000 años), que parece ser mucho, pero en una escala evolutiva puede o no acarrear cambios no solo en el fenotipo y genotipo del organismo, también a nivel de su organización y arquitectura celular, que es el área de interés principal en el grupo de trabajo.

## Hipótesis

Por ser células vegetales fijadas en una etapa de su desarrollo temprano, se debería encontrar una gran cantidad de ribosomas citosólicos, mitocondriales y de cloroplastos, indicando con esto una alta tasa de actividad traduccional al interior de la célula; además estos ribosomas deberían mostrar dimensiones similares a las reportadas en estudios de células eucariontes (+/- 20 nm de diámetro) sin descartar a su vez que puedan existir diferencias también en las dimensiones del ribosoma dependiendo de su ubicación al interior celular.

## Objetivos

### General

Observar, analizar y describir las estructuras ribosomales de *Zea mays perennis* a nivel ultraestructural.

### Particulares

Observar estructuras ribosomales y clasificarlas de acuerdo a su localización en el interior celular (nucleolares, citosólicos, asociados al retículo endoplasmático, mitocondriales)

Determinar si existen diferencias ultraestructurales significativas entre ribosomas según su localización celular.

Realizar una descripción ultraestructural de los ribosomas en *Zea mays perennis*.

## Material y métodos

Se utilizaron semillas de teocintle cultivado como planta de ornato en la Ciudad de México.

Las semillas se lavaron con agua corriente y se pusieron a germinar sobre un sustrato inerte a base de agrolita y fibra de coco, colocado sobre una charola con el medio de nutrientes que se ocupa para cultivos hidropónicos. Esta parte del proceso se hizo cerca de una ventana para que las semillas tuvieran luz durante el día.

De cada semilla germinada se obtuvieron muestras de 1 a 2 mm<sup>3</sup> de meristemo apical (tallo) y de meristemo radical (raíz), las cuales se procesaron con la técnica convencional para microscopía electrónica de transmisión.

### *a) Fijación y post fijación*

Las muestras de tejido se fijaron utilizando una solución aldehídica hecha con paraformaldehído al 4% y glutaraldehído al 6% durante 24 horas. Después se realizaron múltiples lavados con buffer de fosfatos (PBS) para retirar el exceso de fijador y realizando el último lavado con agua bidestilada, para evitar la posterior precipitación del tetraóxido de osmio.

En el proceso de post fijación de las muestras solo fueron utilizadas la mitad de las obtenidas, tanto de meristemo apical, como de meristemo radical. Éstas fueron tratadas con tetraóxido de osmio al 1% por 1 hora y lavadas 7 veces durante 5 minutos con PBS para pasar después, junto con la otra mitad de muestras (sin osmio) por un proceso de deshidratación con etanol. La mitad de las muestras sin post fijación con osmio fueron procesadas hasta su inclusión en resina epóxica de forma similar a las que sí fueron post fijadas, y se conservaron los bloques para técnicas de contraste específicas, como la tinción regresiva preferencial para ribonucleoproteínas con EDTA.

### *b) Deshidratación*

Las muestras fueron deshidratadas en un tren de etanol de concentraciones crecientes, 30%, 50%, 70%, 80%, 90% y 96%, donde permanecieron 10 minutos en cada concentración de etanol. Posteriormente se realizaron otros tres lavados con etanol

absoluto durante 5 minutos cada uno y finalmente, utilizando óxido de propileno al 100% como agente intermediario, se hicieron otros tres lavados de 5 minutos cada uno.

#### *c) Inclusión en Epon*

Después de ser deshidratadas, las muestras se colocaron en un tubo de polipropileno de 1.5 ml y se inició la infiltración de resina, cubriéndolas con una mezcla de óxido de propileno y resina epóxica en una proporción 2:1 durante 24 horas. Transcurrido el tiempo, se cubrieron con una nueva mezcla de óxido de propileno y resina epoxica en proporción 1:1 durante 70 horas. Después las muestras fueron dejadas en una mezcla en proporción 1:2 por 24 horas. Por último, se colocaron las muestras en moldes de silicón a los que se añadió resina pura y se colocaron en una estufa a 60° C durante 48 horas para su polimerización.

#### *d) Corte y contraste*

De los bloques obtenidos se realizaron cortes semifinos con un grosor aproximado a 300 nm, los cuales se montaron sobre un portaobjetos de vidrio y se tiñeron con azul de toluidina. La observación de estos cortes en el microscopio óptico permitió seleccionar la región óptima de la muestra para obtener cortes ultrafinos, de aproximadamente 60 nm de grosor. Los cortes ultrafinos fueron montados sobre una rejilla de cobre de 200 mesh, con membrana de soporte de colodión y se procedió a contrastar con la técnica general de acetato de uranilo - citrato de plomo, y con la tinción regresiva preferencial para ribonucleoproteínas acetato de uranilo - EDTA - citrato de plomo.

#### *e) Contraste con Acetato de Uranilo y Citrato de Plomo*

La rejilla a contrastar se colocó sobre una gota (40µL) de acetato de uranilo al 4% durante 20 minutos en una cámara húmeda, la cual consistió de una caja de Petri con torundas de algodón húmedo, y en condiciones de oscuridad. Posteriormente se lavó la rejilla por goteo con agua bidestilada.

Después del lavado y secado de la rejilla, ésta se colocó (en cámara húmeda) sobre una

gota (40µL) de citrato de plomo al 0.3% durante 10 minutos. Esta cámara húmeda adicionalmente contiene algunas perlas de hidróxido de sodio húmedo para evitar que el plomo se precipite por la presencia de CO<sub>2</sub>.

Por último se lavó la rejilla con abundante agua bidestilada y se colocó sobre papel filtro limpio en una caja Petri. Una vez secas las rejillas fueron observadas en el microscopio electrónico de transmisión.

#### *f) Contraste con Acetato de Uranilo, EDTA y Citrato de Plomo*

Para evidenciar de manera preferencial las ribonucleoproteínas, los cortes ultrafinos montados en rejillas de cobre se colocaron en una solución de ácido etilendiaminotetracético (EDTA) entre la solución de acetato de uranilo y la de citrato de plomo.

Es marcada la diferencia en los tiempos de exposición de la rejilla a las diferentes soluciones de contraste, ocupando en este caso los siguientes tiempos: 3 minutos en Acetato de Uranilo al 4%, 18 minutos en EDTA en condiciones de oscuridad y 1 minuto en citrato de plomo al 0.3%.

Después de ser contrastadas y secadas sobre papel filtro, las rejillas fueron observadas en el microscopio electrónico de transmisión.

#### *g) Microscopía Electrónica de Transmisión*

Para la observación de las rejillas se utilizó un microscopio electrónico (Jeol 1010) trabajando a 80 kV y con aumentos desde 5,000 - 30,000x. Las imágenes fueron registradas con una cámara digital CCD acoplada al microscopio.

#### *h) Cuantificación*

Se tomaron cien ribosomas de cada tipo para obtener el promedio y la desviación estándar del diámetro y la significancia del resultado se midió con la prueba de t-student o ANOVA.

La búsqueda y observación de ribosomas se centró en diferentes regiones celulares;

ribosomas en el nucléolo, correspondientes a la región granular; ribosomas libres en citosol; ribosomas asociados al retículo endoplasmático y ribosomas en mitocondria. Se formó una base de datos con medidas de diámetro de los ribosomas en las diferentes regiones exploradas, estas mediciones se realizaron en FIJI (de ImageJ) y se hizo un análisis gráfico y estadístico de estas bases de datos para obtener información respecto a las diferencias entre las dimensiones de los ribosomas en las diferentes regiones celulares. Para la realización de estos dos análisis se utilizó el software JASP 0.16.3 de análisis estadístico.

El análisis estadístico nos arrojó en primer lugar un promedio y desviación estándar de las longitudes de los complejos ribosomales de las diferentes regiones celulares que se midieron. Posteriormente se realizó un análisis de los datos tipo ANOVA, con el cual se compararon los datos para encontrar si existían diferencias significativas entre los diferentes grupos. El análisis arrojó como respuesta que el único grupo que realmente tuvo una diferencia significativa con respecto a los demás fue el de los ribosomas mitocondriales.

Como parte del análisis gráfico se hizo con JASP que muestra la dispersión de puntos y gráfica en base a ellos la normal. Además se realizó una gráfica de barras con la media y su error estándar, que permite visualmente ver la diferencia entre las dimensiones de los ribosomas según su localización en diferentes compartimentos celulares.

## Resultados

Después de haber realizado el procesamiento de las muestras las primeras imágenes obtenidas fueron de cortes semifinos de aproximadamente 300 nm de grosor, los cuales fueron teñidos con azul de toluidina para su observación en un microscopio óptico. En la figura 19 se observa una imagen panorámica de la estructura y arreglo particular de la muestra cortada, de la cual se seleccionó el área destinada a la obtención de cortes ultrafinos (50-80 nm) para su posterior visualización en el microscopio electrónico.

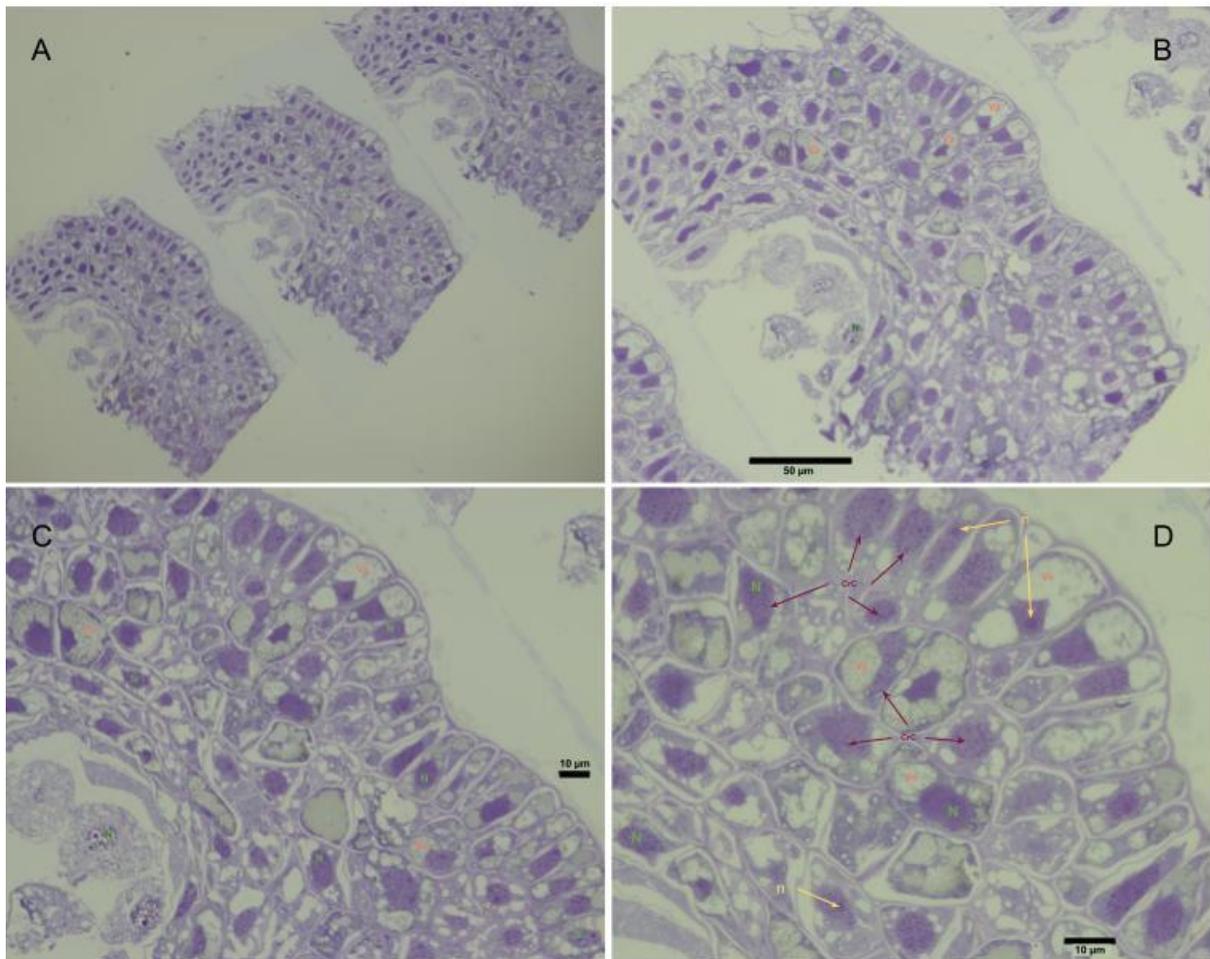


Figura 19. Cortes semifinos de meristemo radical. En la imagen se muestran cortes semifinos (300 nm aprox.) mediante microscopía óptica utilizando diferentes objetivos para su visualización a diferentes aumentos: 10x (A), 20x (B), 60x (C), 100x (D). Se utilizó azul de toluidina para contrastar estos cortes, pues al ser un colorante acidofílico tiene como característica principal la tinción selectiva de componentes ácidos. En las imágenes presentadas, la estructura celular que más resalta de forma general, es el núcleo, donde utilizando el objetivo de 100x (D), se pueden apreciar en algunas células la organización reticulada de su cromatina, y en otras un nucléolo definido. CrC - cromatina condensada, N - núcleo, n - nucleolo, Va - vacuola.

Estos cortes semifinos fueron observados utilizando diferentes objetivos del microscopio

óptico, lo que permite apreciar planos que van de lo general (o menor aumento) –mostrando en esa área la organización celular en el tejido – a lo particular (a un mayor aumento) –que a su vez permite empezar a reconocer con mejor detalle algunas estructuras grandes al interior de la célula –. En la figura 19-A) se observan 3 cortes seriados de aproximadamente 300 nm de grosor, con un arreglo de sus células definido dentro del área de la cara que fue cortada. La tinción con azul de toluidina permitió visualizar algunos organelos y estructuras celulares: núcleos celulares, estructuras membranosas y límites intercelulares, además de estructuras como vacuolas en los espacios en la célula donde pareciera estar vacío, sin tinción. En la figura 19-B) se observa a un aumento a 40x el corte central mostrado en A). Es en C y en D donde los objetivos utilizados son de 60x y 100x respectivamente muestran con mayor detalle la estructura celular, resaltando en particular que se trata de un núcleo con cromatina aparentemente reticulada y un nucléolo central con forma redondeada de aproximadamente 4  $\mu\text{m}$  de diámetro. Además, es evidente en algunas de las células el gran espacio utilizado por las vacuolas.

Después de haber observado los cortes semifinos se delimitaron algunas regiones con características particulares y de interés para ver en el microscopio electrónico. Una vez seleccionada el área se obtuvieron cortes de aproximadamente 60 nm de grosor los cuales después de montarse sobre rejillas de cobre y ser procesadas con contrastantes a base de metales pesados fueron observadas en el microscopio electrónico de transmisión (MET). La observación de estos cortes en el MET permitió apreciar a mayor detalle la ultraestructura celular y la organización y arquitectura de los organelos al interior.

En la figura 20, se muestra la arquitectura celular del teocintle utilizando el MET. En la figura 20-A se observa la imagen panorámica de una célula bien delimitada con zonas que muestran baja densidad electrónica, que probablemente corresponde a vacuolas, un núcleo ovalado bien definido con cromatina condensada dispersa y cromatina perinuclear. En esta célula, el nucléolo se encontró en la periferia nuclear. En la figura 20-B se observa el núcleo celular a mayor aumento, el cual contiene unas estructuras pequeñas de dimensiones constantes (aprox 32 nm), los cuales parecen corresponder a cuerpos de cajal. La estructura nuclear en diferentes células se mostró de forma esférica (Figura 20-C) y de forma ovalada (Figura 20-D). Ambos núcleos mostraron en su interior una región nucleolar clara, de forma esférica y aparentemente granular, con dimensiones aproximadas a 30 nm ( $\bar{X}$  -> 32.26 nm). En estos núcleos también son apreciables manchas de cromatina condensada con arreglo reticular dispuestas en su interior y asociadas a la membrana interna de la envoltura nuclear.

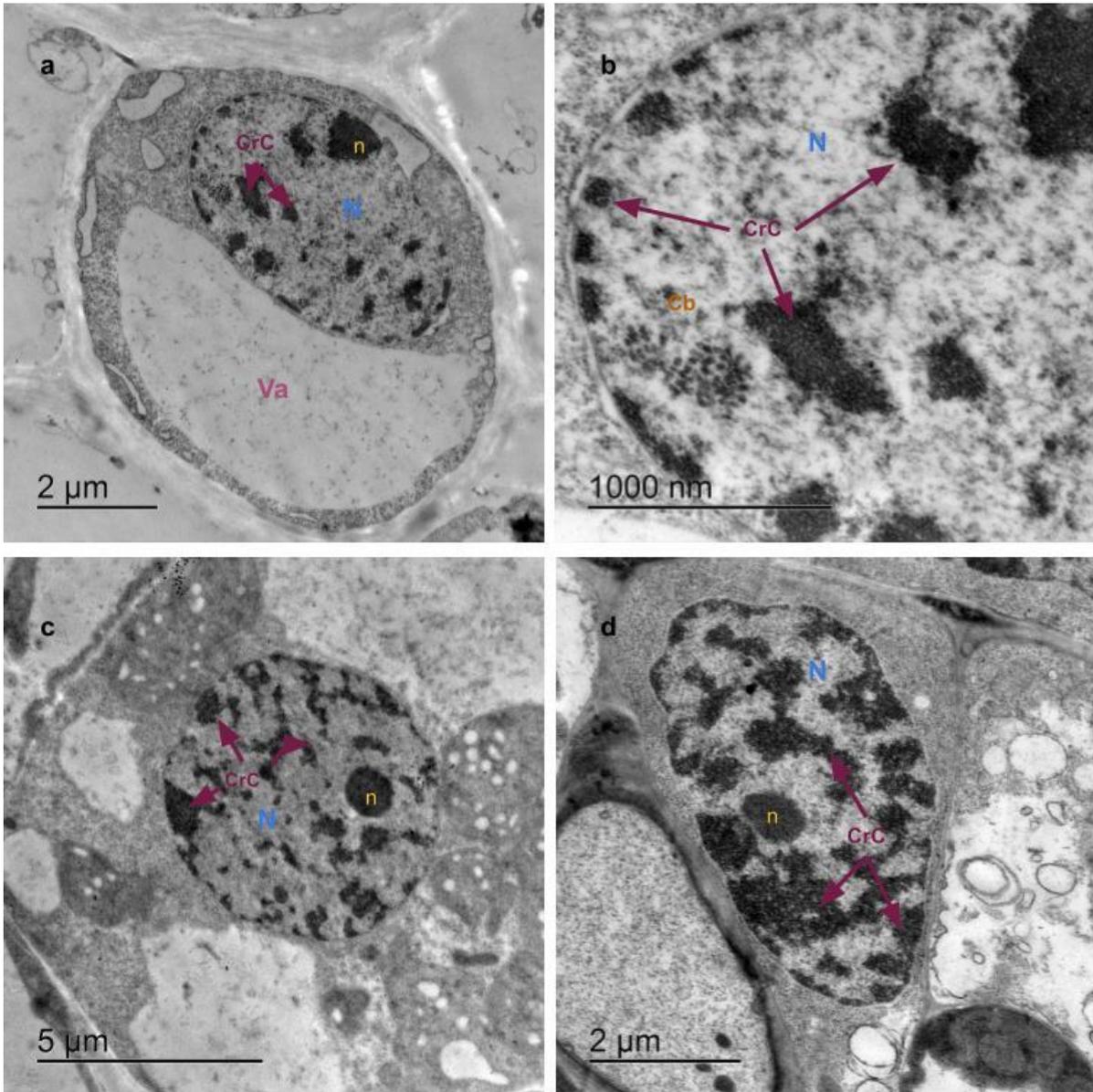


Figura 20. Arquitectura nuclear en células de teocintle (*Zea perennis*). A-B) Células de meristemo radical. Se puede observar la célula completa y bien delimitado el núcleo en A), además que al hacer un aumento en el mismo corte en b) se observaron algunas estructuras parecidas a Cuerpos de Cajal cercanos en la periferia de la membrana interna de la envoltura nuclear. C-D) Células de meristemo apical. En ambos casos se observa la membrana doble de la envoltura nuclear, puede observarse también la disposición reticulada de la cromatina y un nucleolo redondeado o semiesférico. (N-Núcleo., Va-Vacuola., Cb-Cajal bodies/Cuerpos de Cajal., CrC-Cromatina compacta., n-nucleolo)

El análisis ultraestructural del nucléolo fue de suma importancia para éste trabajo, pues esta región intranuclear está directamente relacionada a la biogénesis de las subunidades ribosomales. En la figura 21, se puede observar el nucléolo de 3 células diferentes, cabe resaltar que también se observan cromatina condensada, ribosomas citosólicos y algunas otras estructuras como mitocondrias.

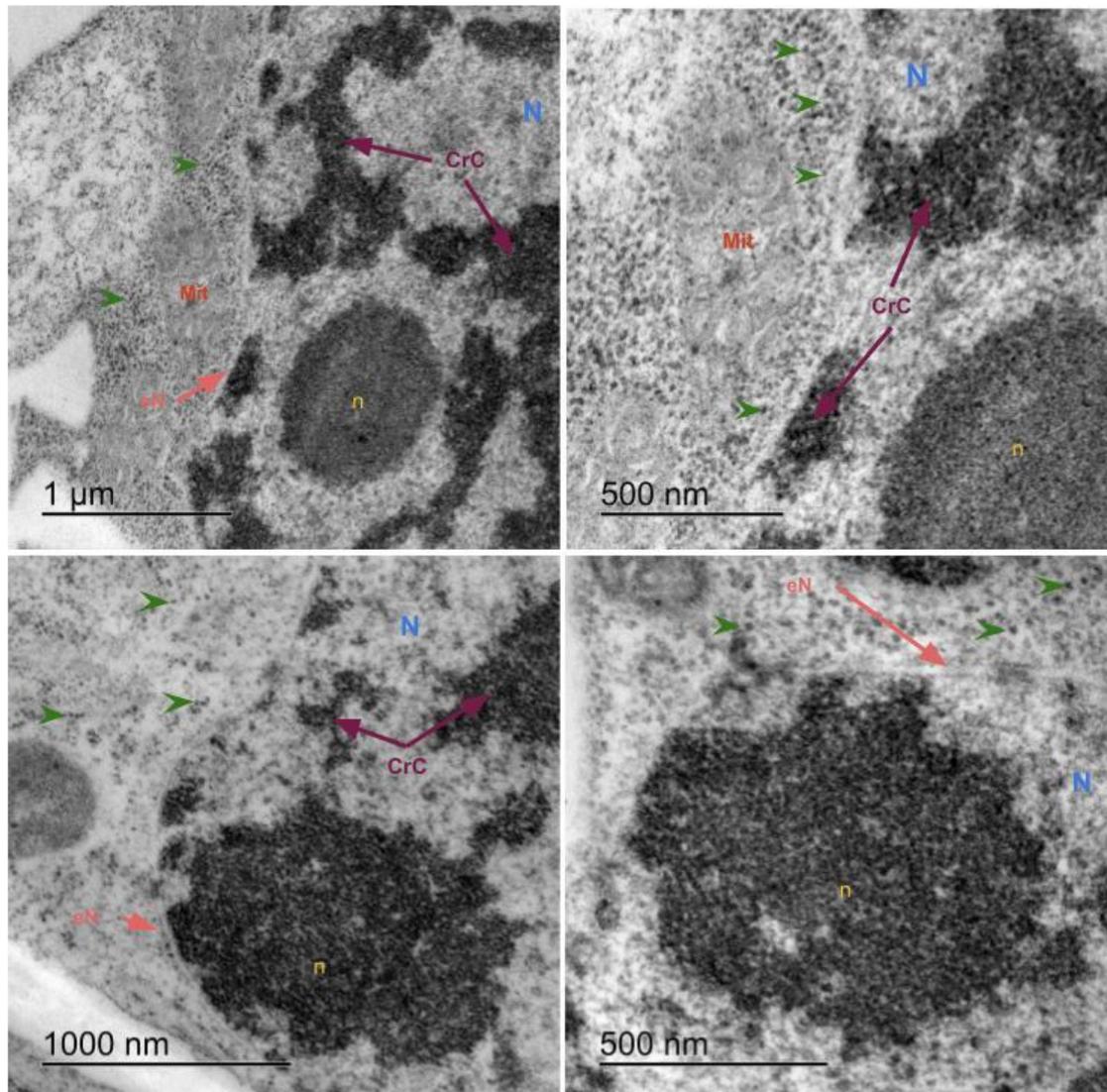


Figura 21. Arquitectura del nucleolo celular en células meristemáticas de teocintle. A-B) Son imágenes que corresponden a la misma célula. Se puede apreciar un núcleo alargado y algunas mitocondrias en el citoplasma. En el interior del núcleo también se observa un nucléolo bien definido, de formas más o menos esférica que se encuentra rodeado de cromatina compacta, esta se observa ligeramente más electrodensa comparada con la región nucleolar. En C) y D) se observa el nucleolo celular situado en la periferia nuclear, y pueden apreciarse un poco mejor onas con variaciones aparentes en la densidad electrónica observada, lo cual podría marcar al menos dos de los diferentes subcompartimentos nucleolares. (eN-envoltura nuclear., N-Núcleo., CrC-Cromatina compacta., n-nucleolo., puntas de flecha (verdes) - ribosomas citoplasmáticos)

El nucléolo es una estructura que no se encuentra delimitado por ninguna membrana, pero posee dominios con funciones específicas. En la figura 21-A) se muestra el núcleo de una célula, donde se aprecia su doble membrana. Se observa también la presencia nítida de algunas mitocondrias y algunas zonas posiblemente pertenecientes a vacuolas. Al interior del núcleo puede observarse la disposición de la cromatina, y un nucléolo ligeramente ovalado. A mayor aumento (Figura 21-B) puede apreciarse ligeramente el cambio en la densidad electrónica que existe entre nucléolo y las regiones de cromatina compacta. Se observan unas pequeñas esferas electrodensas que corresponden a los complejos

ribosomales cuyas dimensiones en longitud son de 15.22 nm SD 2.5. Las figuras 21-C y 21-D muestran el nucléolo de diferentes células, ambas estructuras situadas en proximidad a la membrana interna de la envoltura nuclear. Además, se aprecian dos subcompartimentos nucleolares: el componente fibrilar denso y el componente granular.

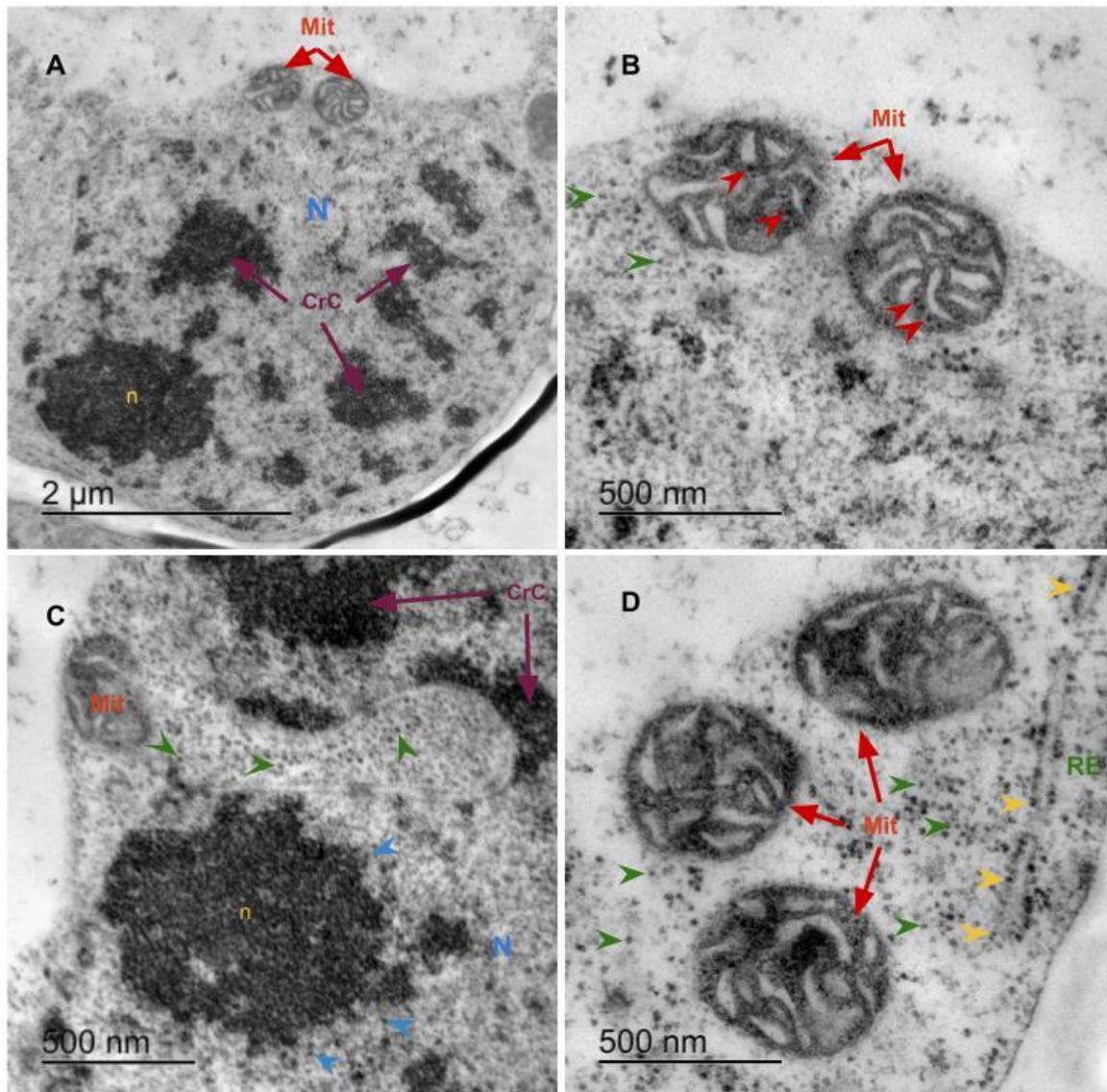


Figura 22. Localización *in situ* de ribosomas de meristemo radical (*Zea perennis*: Teocintle) A) Se observa el núcleo completo, al interior puede observarse el nucleolo y zonas de cromatina condensada. También en la parte superior al núcleo se observan dos mitocondrias a las que se hace un aumento en B) donde son observables algunos mitorribosomas presentes en las crestas mitocondriales, se observan además ribosomas libres en citoplasma. C) En esta imagen se logra apreciar la periferia nuclear de una célula con su nucleolo asociado aparentemente a la membrana interna de la envoltura nuclear. Se logran observar algunas subunidades ribosomales en la periferia nucleolar y una gran cantidad de ribosomas libres en el citoplasma justo en la parte externa al núcleo. D) Se observan tres mitocondrias con algunos mitorribosomas, también ribosomas citoplasmáticos y en la parte derecha una serie de ribosomas asociados a retículo endoplasmático. (N-Núcleo., CrC-Cromatina compacta., n-nucleolo., Mit-mitocondria., puntas de flecha - ribosomas; verde / citoplasmáticos; amarilla / asociados a retículo endoplásmico; azules / nucleolares; rojas / mitocondriales)

La figura 22, muestra 3 células diferentes donde se observan además de núcleo y nucléolo algunas estructuras de interés para este trabajo las cuales son mitocondria y retículo endoplásmico. A mayor aumento, en las mitocondrias se observan algunos ribosomas, los cuales fueron medidos y comparados. En la región nucleolar, que aparentemente corresponde al componente granular (principalmente en la periferia del organelo), se observan algunas partículas que corresponden a las subunidades ribosomales. También fueron observables ribosomas en el exterior de la envoltura nuclear, y una mitocondria con algunos pequeños complejos ribosomales (Figura 22-C). En la Figura 22-D se aprecian ribosomas mitocondriales, ribosomas libres en citosol y ribosomas asociados al retículo endoplásmico.

La búsqueda y observación de ribosomas se centró en la región granular del nucléolo, ribosomas libres en el citosol, ribosomas asociados al retículo endoplasmático y ribosomas en mitocondria. El análisis estadístico básico que nos proporcionó JASP se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Valores de media y error estándar del diámetro de ribosomas medidos en los diferentes compartimentos celulares. La medición del diámetro de los ribosomas se realizó utilizando el software libre Fiji (de ImageJ) y para el análisis estadístico se utilizó el software libre JASP.

**Marginal Means - Compartimentos celulares**

Compartimentos celulares	Marginal Mean	SE	95% CI	
			Lower	Upper
Nucleolo	15.326	0.211	14.911	15.740
Citoplasma	17.125	0.211	16.711	17.540
Asociados a Retículo Endoplásmico	17.973	0.211	17.558	18.387
Mitocondria	12.249	0.211	11.834	12.663

Estos valores mostrados nos dieron un primer avistamiento de la diferencia en las dimensiones medidas en los diferentes organelos, siendo evidente que los ribosomas encontrados en mitocondria fueron los de menor diámetro con respecto a los otros tres grupos que se consideraron.

Tomando como base los promedios para cada grupo mostrados en la tabla 1, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existían diferencias en sus dimensiones que fueran estadísticamente significativas. Este análisis confirmó que la única diferencia

estadísticamente significativa, comparando la varianza entre todos los grupos de datos corresponde a las dimensiones del diámetro medido en los ribosomas encontrados en las mitocondrias, como se muestra en la figura 23.

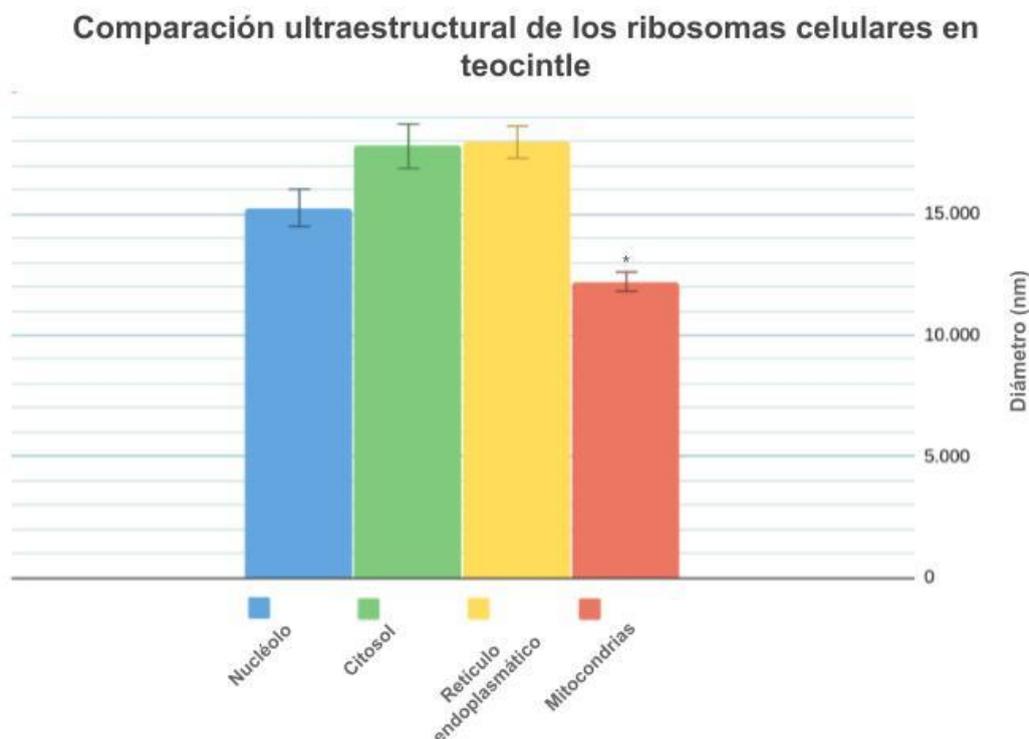


Figura 23. Gráfica de los valores de media y error estándar del diámetro de ribosomas medidos en los diferentes compartimentos celulares. La medición del diámetro de los ribosomas se realizó utilizando el software libre Fiji (de ImageJ) y para el análisis estadístico se utilizó el software libre JASP.

El software JASP, nos permitió realizar un análisis gráfico de todos los datos recolectados. De esta forma nos muestra dos tipos de gráficas al realizar su análisis comparativo, lo que nos permite tener una referencia visual de los datos que obtuvimos al medir el diámetro de los ribosomas encontrados en citosol y asociados a los otros tres organelos, como se muestra en la figura 24. Por un lado, mientras compara los datos del mismo grupo, nos muestra una gráfica de barras muestra la distribución de las mediciones del diámetro tomadas, siendo en todos los casos una distribución normal de los datos. Las otras gráficas de dispersión de puntos nos muestran la distribución de las medidas tomadas, pero comparando en cada caso dos grupos diferentes.

## Análisis gráfico de la dispersión de los datos tomados en cada compartimento celular

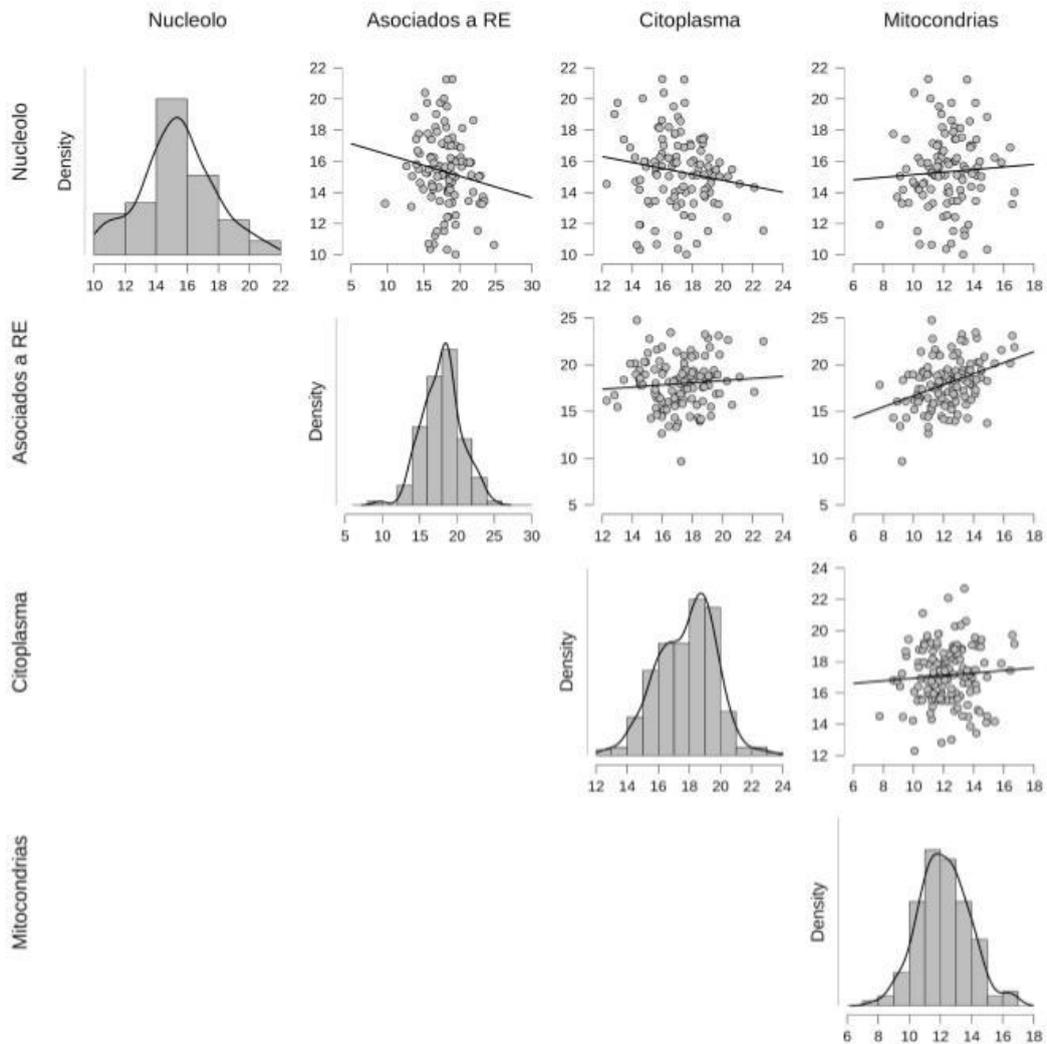


Figura 24. Análisis gráfico de la dispersión de los datos comparados entre los diferentes compartimentos celulares. La comparación entre el mismo compartimento muestra la distribución de normal de los las mediciones del diámetro medidas., y en comparación con otros compartimentos muestra de forma visual la diferencia en el tamaño de los ribosomas con respecto a los datos globales de los compartimentos comparados. Para el análisis estadístico se utilizó el software libre JASP.

## Discusión

El trabajar con células meristemáticas poco diferenciadas, con una alta tasa de división celular y preparándose para su posterior diferenciación presenta algunas implicaciones inherentes a sus atributos fisiológicos, que es imperativo considerar al exponer nuestros datos. Se sabe que este tipo de regiones celulares son responsables del crecimiento vegetal, con una alta dinámica en la división celular y por lo tanto, en la tasa de procesamiento de información genética para la producción de elementos funcionales y de estructura. Todo este proceso de proliferación continua se mantiene gracias a un aporte constante de proteínas, las cuales proporcionan los requerimientos necesarios para tener el tamaño celular adecuado para entrar en división. Debido a esta necesidad proteica por parte de las células meristemáticas, se considera la alta actividad de la RNA pol1 un punto clave en este tipo de tejidos celulares, pues ésta sintetiza rRNA y marca el inicio de la biogénesis de las subunidades ribosomales en la región nucleolar (Manzano, A. I. et al, 2013). Por tanto, ultraestructuralmente la presencia de ribosomas libres en el citosol o asociados a otros organelos, y las dimensiones que presenta el núcleo nos dan un parámetro de la actividad transcripcional en la célula. En concordancia, las imágenes obtenidas mostraron una concentración variada de ribosomas en los organelos analizados, de los cuales, el mayor índice de expresión se presentó en la región citosólica en donde se observó una mayor densidad y distribución.

Los ribosomas asociados al RE, que participan principalmente en la biosíntesis de tres grupos de proteínas: proteínas secretoras, proteínas integrales de membrana y proteínas pertenecientes al lumen derivado de las membranas del RE, mantuvieron una forma esférica y dimensiones en su diámetro similares a las de ribosomas libres en citosol. Debido a la alta densidad de asociación que tienen algunos ribosomas a la membrana del RE, se considera al retículo endoplasmático rugoso (RER) como el mayor sitio de síntesis proteica en células eucariontes (Mandon, E. C., Trueman, S. F., y Gilmore, R., 2013). En nuestro caso particular, las imágenes que obtuvimos en el TEM no mostraron con frecuencia zonas en las que se pudieran observar ribosomas asociados al RE, sin embargo tomando en cuenta que la imagen obtenida por TEM nos muestra solo un plano de una estructura tridimensional, suponemos que el área abarcado por este organelo es muchos más extensa de lo que se alcanza a observar en las imágenes tomadas.

Los ribosomas mitocondriales presentaron menor diámetro con respecto a los demás compartimentos lo cual está en concordancia con algunos reportes sobre la diferencia de tamaño de los ribosomas presentes en mitocondrias y otros plástidos por su origen endosimbiótico (Tomal, A., Kwasniak-Owczarek, M., y Janska, H., 2019). A pesar de encontrar similitudes en la descripción general de las dimensiones de estos mitorribosomas con respecto a los ribosomas de origen nucleolar, las dimensiones del diámetro medido no coinciden del todo, lo que probablemente sea producto de sesgos en los parámetros considerados en el momento de tomar el diámetro de las estructuras ribosomales, además de los parámetros de calibración propios del software utilizado para el análisis de bioimagen.

No es posible afirmar que todos los ribosomas observados se encontraban activos sin realizar otro tipo de métodos de visualización. Sin embargo analizando las imágenes se pudo observar que estas estructuras conservaron una forma redondeada, casi simétrica, que permite suponer que se trata de complejos ribosomales completos o ensamblados (subunidad pequeña y subunidad grande) y esto sería un indicativo de que estos son potencialmente activos en procesos de síntesis proteica.

Respecto al tamaño, la única diferencia estadísticamente significativa que se encontró fue entre los ribosomas mitocondriales (12.25 nm) y los otros tres grupos analizados. Esto tiene gran relevancia tomando en cuenta que la mitocondria a pesar de tener su propio material genético no contiene tantos genes que se traduzcan directamente en su interior, sino que se vale también de un sistema de importación de proteínas cuya información genética es almacenada en el núcleo celular, y por ende sintetizadas en el citosol. Sin embargo, es inevitable considerar las implicaciones evolutivas que podrían estar de fondo en la conservación de esta maquinaria molecular significativamente más pequeña con respecto a las que coexisten en los demás compartimentos celulares, que son de origen nucleolar (Tomal, A., Kwasniak-Owczarek, M., y Janska, H., 2019).

Con respecto al tamaño de los ribosomas en los otros 3 compartimentos celulares que no presentaron una diferencia significativa, podría deberse a que se realizó el análisis principalmente en el componente granular. Por lo tanto, posiblemente corresponde a las subunidades ribosomales y no a los complejos ribosomales completos. Asimismo, la diferencia estadística se reduce casi a nada si se comparan las estructuras ribosomales libres en citosol y las que se encuentran asociadas a retículo endoplasmático.

Por otra parte, la disposición reticular de la cromatina compacta en el interior nuclear puede indicar una alta actividad transcripcional, pues se ha reportado que en la periferia de ésta existen zonas con fibras de DNA transcripcionalmente activo (fibras pericromatinianas), las cuales, a pesar de no ser parte del problema particular de este trabajo, serían una buena referencia de la actividad celular, pues refleja en última instancia la ultraestructura particular de la expresión génica (Puvion, E., & Puvion-Dutilleul, F., 1996). Se observaron también otras estructuras intranucleares en forma de pequeños gránulos que parecieran corresponder a cuerpos de Cajal, y aunque fue un hallazgo importante no tuvimos los medios para confirmar que se tratara de estas estructuras. De ser cuerpos de Cajal, se podría suponer que la actividad en núcleo celular es elevada, pues estas ribonucleoproteínas (RNPs) son consideradas como un dominio nuclear donde tiene lugar el ensamblaje de la maquinaria transcripcional, además de estar en estrecha relación funcional con el nucleolo .

Los resultados obtenidos con este trabajo arrojaron información de la estructura a nivel celular y subcelular de un organismo que no había sido estudiado bajo el microscopio electrónico, ofreciendo una ventana a través de la cual fueron observables la organización y disposición de organelos celulares de gran interés en el área de la biología celular y de forma particular en el laboratorio. Uno de los puntos de discusión más importantes que arrojó este trabajo es, que al parecer la arquitectura celular y en particular la arquitectura nuclear que ofrece el teocintle no ha tenido cambios sustanciales con respecto a las imágenes de ultraestructura que se han reportado para maíz. Esto tiene serias implicaciones, pues se podría suponer que en el proceso de domesticación que dio lugar a las variedades conocidas actualmente de maíz, que se calcula fue un proceso de alrededor de 10,000 años, ha generado cambios en la plasticidad de la expresión genética y por lo tanto en el fenotipo de cada variedad. Sin embargo, lo anterior no implica la existencia de cambios en su arquitectura en un nivel ultraestructural, pues se ha mostrado en algunos otros experimentos donde realizan transfección de genes, no conlleva cambios en la ultraestructura celular (Jiménez-García, Luis F et al., 2020).

Considero que las implicaciones del presente trabajo pueden ser muy variadas, pues puede verse como parte de un acervo de la diversidad que existe a nivel celular de un organismo de interés no solamente biológico-evolutivo, sino también cultural, con sus propias particularidades y relaciones que quizá aún no podemos visualizar.

## Conclusiones

- El análisis estructural de los ribosomas mostró su posición y distribución en diferentes compartimentos celulares, siendo el citosol donde se encontró mayor abundancia de éstos.
- Al comparar los ribosomas en las diferentes regiones celulares (nucléolo, citosol, asociados a RE y mitocondria) se encontró que la única diferencia estadísticamente significativa en la dimensión de estas estructuras fue en las mitocondrias, donde resultaron ser más pequeños ( $12.000\text{nm} \pm 0.211 \text{ EE}$ ) con respecto a las dimensiones tomadas en los otros compartimentos celulares.
- Los ribosomas de teocintle del citosol y mitocondrias mantienen una forma semiesférica con una ultraestructura y dimensiones similares a otros organismos eucariontes.
- Lo anterior sugiere que al menos en cuanto a la ultraestructura celular y arquitectura en este caso de los ribosomas celulares de teocintle, el proceso de domesticación no induce cambios detectables por medio de técnicas de visualización en MET estándar.

## Perspectivas

El desarrollo de este trabajo tuvo grandes resultados desde el punto de vista ultraestructural con respecto al teocintle, y existe la posibilidad de continuar con esta línea de trabajo realizando en un futuro la ultraestructura celular del maíz, poniendo énfasis en la arquitectura de ciertos organelos como el núcleo y nucléolo, realizando también una búsqueda y caracterización de los ribosomas presentes en el citosol o asociados a otros organelos. El trabajo realizado en esta tesis puede ser un parteaguas para hacer en un futuro comparaciones a nivel de ultraestructura entre especies del mismo género (*Zea*) y buscar diferencias y similitudes, teniendo en consideración la domesticación como parte de la historia evolutiva que ha tenido este organismo, y cómo este proceso de selección artificial tuvo influencia o no en su arreglo ultraestructural.

Como se mencionó anteriormente, la técnica estándar de microscopía electrónica no mostró diferencias evidentes a nivel ultraestructural de los ribosomas en teocintle. Sin embargo, no se descarta que utilizando algunas otras metodologías que van desde técnicas de caracterización molecular hasta otras técnicas avanzadas de microscopía óptica como microscopía de superresolución, o técnicas avanzadas de microscopía electrónica como la crio-microscopía, o microscopía electrónica utilizando luz de sincrotrón o mediante técnicas de difracción de rayos x se pueden obtener datos suficientes que arrojen diferencias a nivel estructural.

## Referencias

1. Agmon I. (2018). Hypothesis: Spontaneous Advent of the Prebiotic Translation System via the Accumulation of L-Shaped RNA Elements. *International journal of molecular sciences*, 19(12), 4021.
2. Arenas Alatorre J. A. (2005) Contribuciones de la física en la historia de la microscopía. *Revista Digital Universitaria*. 6:7
3. Atkin, O. K., & Macherel, D. (2009). The crucial role of plant mitochondria in orchestrating drought tolerance. *Annals of botany*, 103(4), 581–597.
4. Bardell, D. (1983). The First Record of Microscopic Observations. *BioScience*, 33(1), 36–38.
5. Bardell, D. (2004). The Invention of the Microscope. *Bios*, 75(2), 78–84. <http://www.jstor.org/stable/4608700>
6. Baross, J. A., & Martin, W. F. (2015). The Ribofilm as a Concept for Life's Origins. *Cell*, 162(1), 13–15.
7. Bashan, A., & Yonath, A. (2008). Correlating ribosome function with high-resolution structures. *Trends in microbiology*, 16(7), 326–335.
8. Baßler, J., & Hurt, E. (2019). Eukaryotic Ribosome Assembly. *Annual review of biochemistry*, 88, 281–306.
9. Bieri, P., Leibundgut, M., Saurer, M., Boehringer, D., & Ban, N. (2017). The complete structure of the chloroplast 70S ribosome in complex with translation factor pY. *The EMBO journal*, 36(4), 475–486.
10. Cardona Suárez, C. A. (2012). El problema de Alhacén. *Asclepio*, 64(1), 251–276.
11. Carmo-Fonseca M. (2015). Assembly of the nucleolus: in need of revision. *The EMBO journal*, 34(22), 2731–2732.
12. Chen, D., & Huang, S. (2001). Nucleolar components involved in ribosome biogenesis cycle between the nucleolus and nucleoplasm in interphase cells. *The Journal of cell biology*, 153(1), 169–176.
13. Emmott, E., Jovanovic, M., & Slavov, N. (2019). Ribosome Stoichiometry: From Form to Function. *Trends in biochemical sciences*, 44(2), 95–109.
14. Fox G. E. (2010). Origin and evolution of the ribosome. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(9).

15. Freundlich M. M. (1963). Origin of the electron microscope. *Science (New York, N.Y.)*, 142(3589), 185–188.
16. Genuth, N. R., & Barna, M. (2018). Heterogeneity and specialized functions of translation machinery: from genes to organisms. *Nature reviews. Genetics*, 19(7), 431–452.
17. Genuth, N. R., & Barna, M. (2018). The Discovery of Ribosome Heterogeneity and Its Implications for Gene Regulation and Organismal Life. *Molecular cell*, 71(3), 364–374.
18. Gilbert W. V. (2010). Alternative ways to think about cellular internal ribosome entry. *The Journal of biological chemistry*, 285(38), 29033–29038.
19. Gottlieb, T. M., Wade, M. J., & Rutherford, S. L. (2002). Potential genetic variance and the domestication of maize. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 24(8), 685–689.
20. Hart, J. P., Matson, R. G., Thompson, R. G., & Blake, M. (2011). Teosintle inflorescence phytolith assemblages mirror Zea taxonomy. *PloS one*, 6(3).
21. Horiguchi, G., Van Lijsebettens, M., Candela, H., Micol, J. L., & Tsukaya, H. (2012). Ribosomes and translation in plant developmental control. *Plant science : an international journal of experimental plant biology*, 191-192, 24–34.
22. Janska, H., & Kwasniak, M. (2014). Mitoribosomal regulation of OXPHOS biogenesis in plants. *Frontiers in plant science*, 5, 79.
23. Jiménez-García, Luis F., et al. (2020). Transfection of Human Gingival Fibroblasts with Cementum Protein 1 does not Alter the Ultrastructure of the Interchromatin Granule Clusters in the Cell Nucleus. *EC Dental Science* 19.8: 179-186.
24. Kalinina, N. O., Makarova, S., Makhotenko, A., Love, A. J., & Taliansky, M. (2018). The Multiple Functions of the Nucleolus in Plant Development, Disease and Stress Responses. *Frontiers in plant science*, 9, 132.
25. Kitakawa, M., & Isono, K. (1991). The mitochondrial ribosomes. *Biochimie*, 73(6), 813–825.
26. Kressler, D., Hurt, E., & Baßler, J. (2017). A Puzzle of Life: Crafting Ribosomal Subunits. *Trends in biochemical sciences*, 42(8), 640–654.
27. Kumar Saini, A & Kumar, V. (2021) Ribosome structure. On V. Kumar (Ed.), *Emerging Concepts in Ribosome Structure, Biogenesis, and Function* (pp. 15-32). Academic Press
28. Lake J. A. (1985). Evolving ribosome structure: domains in archaebacteria, eubacteria, eocytes and eukaryotes. *Annual review of biochemistry*, 54, 507–530.

29. Lam, Y. W., & Trinkle-Mulcahy, L. (2015). New insights into nucleolar structure and function. *F1000prime reports*, 7, 48.
30. Lambert, L & Mulvey, T. (1996). Ernst Ruska (1906–1988), Designer Extraordinaire of the Electron Microscope: A Memoir. *Advances in Imaging and Electron Physics*. Elsevier 95:2-62
31. Lane, N. (2015). The unseen world: reflections on Leeuwenhoek (1677) 'Concerning little animals'. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 370(1666)
32. Liere, K., Weihe, A., & Börner, T. (2011). The transcription machineries of plant mitochondria and chloroplasts: Composition, function, and regulation. *Journal of plant physiology*, 168(12), 1345–1360.
33. Lorant, A., Pedersen, S., Holst, I., Hufford, M. B., Winter, K., Piperno, D., & Ross-Ibarra, J. (2017). The potential role of genetic assimilation during maize domestication. *PloS one*, 12(9), e0184202.
34. Mandon, E. C., Trueman, S. F., & Gilmore, R. (2013). Protein translocation across the rough endoplasmic reticulum. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 5(2), a013342.
35. Mangelsdorf, P. C. (1983). The Mystery of Corn: New Perspectives. *Proceedings of the American Philosophical Society*, 127(4), 215–247.
36. Manzano, A. I., Larkin, O. J., Dijkstra, C. E., Anthony, P., Davey, M. R., Eaves, L., Hill, R. J., Herranz, R., & Medina, F. J. (2013). Meristematic cell proliferation and ribosome biogenesis are decoupled in diamagnetically levitated Arabidopsis seedlings. *BMC plant biology*, 13, 124.
37. Meyer, R. S., & Purugganan, M. D. (2013). Evolution of crop species: genetics of domestication and diversification. *Nature reviews. Genetics*, 14(12), 840–852.
38. Michael J. (2021). What do we mean when we talk about "structure/function" relationships?. *Advances in physiology education*, 45(4), 880–885.
39. Moore P. B. (2009). The ribosome returned. *Journal of biology*, 8(1), 8.
40. Nerurkar, P., Altvater, M., Gerhardy, S., Schütz, S., Fischer, U., Weirich, C., & Panse, V. G. (2015). Eukaryotic Ribosome Assembly and Nuclear Export. *International review of cell and molecular biology*, 319, 107–140.
41. Paez, Calderon & Joglar (2016). Historia de la microscopía. *Aportes para la solución de problemas científicos en la clase de biología*. Historia y filosofía de la ciencia.
42. Palade, G. E. (1955). A small particulate component of the cytoplasm. *The Journal of biophysical and biochemical cytology*, 1(1), 59–68.

43. Pecoraro, A., Pagano, M., Russo, G., & Russo, A. (2021). Ribosome Biogenesis and Cancer: Overview on Ribosomal Proteins. *International journal of molecular sciences*, 22(11), 5496.
44. Petrov, A. S., Gulen, B., Norris, A. M., Kovacs, N. A., Bernier, C. R., Lanier, K. A., Fox, G. E., Harvey, S. C., Wartell, R. M., Hud, N. V., & Williams, L. D. (2015). History of the ribosome and the origin of translation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(50), 15396–15401.
45. Piazzzi, M., Bavelloni, A., Gallo, A., Faenza, I., & Blalock, W. L. (2019). Signal Transduction in Ribosome Biogenesis: A Recipe to Avoid Disaster. *International journal of molecular sciences*, 20(11), 2718.
46. Puvion, E., & Puvion-Dutilleul, F. (1996). Ultrastructure of the nucleus in relation to transcription and splicing: roles of perichromatin fibrils and interchromatin granules. *Experimental cell research*, 229(2), 217–225.
47. Rodríguez-Leal, D., Castillo-Cobián, A., Rodríguez-Arévalo, I., & Vielle-Calzada, J. P. (2016). A Primary Sequence Analysis of the ARGONAUTE Protein Family in Plants. *Frontiers in plant science*, 7, 1347.
48. Sáez-Vásquez, J., & Delseny, M. (2019). Ribosome Biogenesis in Plants: From Functional 45S Ribosomal DNA Organization to Ribosome Assembly Factors. *The Plant cell*, 31(9), 1945–1967.
49. Sánchez Lera, R. M., & Oliva García, N. R. (2015). Historia del microscopio y su repercusión en la Microbiología. *Humanidades Médicas*, 15(2), 355-372.
50. Schertl, P., & Braun, H. P. (2014). Respiratory electron transfer pathways in plant mitochondria. *Frontiers in plant science*, 5, 163.
51. Sharma, M. R., Wilson, D. N., Datta, P. P., Barat, C., Schluenzen, F., Fucini, P., & Agrawal, R. K. (2007). Cryo-EM study of the spinach chloroplast ribosome reveals the structural and functional roles of plastid-specific ribosomal proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(49), 19315–19320.
52. Steitz, T. A., & Moore, P. B. (2017). Perspectives on the ribosome. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 372(1716).
53. Tomal, A., Kwasniak-Owczarek, M., & Janska, H. (2019). An Update on Mitochondrial Ribosome Biology: The Plant Mitoribosome in the Spotlight. *Cells*, 8(12), 1562.
54. Vallebuena-Estrada, M., Rodríguez-Arévalo, I., Rougon-Cardoso, A., Martínez González, J., García Cook, A., Montiel, R., & Vielle-Calzada, J. P. (2016). The earliest maize from San Marcos Tehuacán is a partial domesticate with genomic

- evidence of inbreeding. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(49), 14151–14156.
55. van Zuylen J. (1981). The microscopes of Antoni van Leeuwenhoek. *Journal of microscopy*, 121(Pt 3), 309–328.
56. Varano, C. (2022). Pioneers in Optics: Ernst Ruska (1906–1988). *Microscopy Today*, 30(2), 46–46.
57. Walsh, D., & Mohr, I. (2011). Viral subversion of the host protein synthesis machinery. *Nature reviews. Microbiology*, 9(12), 860–875.
58. Waltz, F., Nguyen, T. T., Arrivé, M., Bochler, A., Chicher, J., Hammann, P., Kuhn, L., Quadrado, M., Mireau, H., Hashem, Y., & Giegé, P. (2019). Small is big in Arabidopsis mitochondrial ribosome. *Nature plants*, 5(1), 106–117.
59. Weis, F., Giudice, E., Churcher, M., Jin, L., Hilcenko, C., Wong, C. C., Traynor, D., Kay, R. R., & Warren, A. J. (2015). Mechanism of eIF6 release from the nascent 60S ribosomal subunit. *Nature structural y molecular biology*, 22(11), 914–919.
60. Wimmer, W. (2017). Carl Zeiss, Ernst Abbe, and Advances in the Light Microscope. *Microscopy Today*, 25(4), 50–57.
61. Yang, C. J., Samayoa, L. F., Bradbury, P. J., Olukolu, B. A., Xue, W., York, A. M., Tuholski, M. R., Wang, W., Daskalska, L. L., Neumeyer, M. A., Sanchez-Gonzalez, J. J., Romay, M. C., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Buckler, E. S., Holland, J. B., & Doebley, J. F. (2019). The genetic architecture of teosinte catalyzed and constrained maize domestication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(12), 5643–5652.