

ULTRAESTRUCTURA DE CALLOS EMBRIOGÉNICOS Y NO EMBRIOGÉNICOS DE BANANO WILLIAMS (AAA, *Musa spp.*)¹

Maribel del C. Ramírez V.*, Eva de García** y Héctor J. Finol**

RESUMEN

Los estudios ultraestructurales durante la embriogénesis somática son muy importantes porque permiten comprender y mejorar este proceso morfogénico. De allí que este trabajo tuvo como objetivo caracterizar ultraestructuralmente callos embriogénicos (CE) y no embriogénicos (CNE) de banano Williams (*Musa spp.*). En células de ambos tipos de callos se observaron pared celular, membrana plasmática, citoplasma (retículo endoplasmático rugoso, membrana vacuolar, ribosomas y mitocondrias) y vacuolas. El contenido citoplasmático en el CNE fue menor y la pared celular delgada. Las células de CE resultaron pequeñas, isodiamétricas con citoplasma denso, vacuola pequeña y pared gruesa.

Palabras Clave: Embriogénesis somática; ultraestructura; *Musa spp.*

1 Trabajo financiado parcialmente por el FONACIT a través del Proyecto G 9 7000 700, otorgado a la Dra. Eva de García. Esta investigación forma parte del Proyecto de Tesis Doctoral "Caracterización morfoanatómica, ultraestructural y bioquímica de los procesos relacionados con la embriogénesis somática en *Musa spp.*".

* Estudiante de Postgrado en Botánica y Profesora del Departamento de Botánica. La Universidad del Zulia (ULA). Facultad de Agronomía. Apdo. 15205. ZU4005. E-mail: mcramire@cantv.net.

** Profesores. UCV. Facultad de Ciencias. Laboratorio de Biotecnología Vegetal. Centro de Botánica Tropical. Instituto de Biología Experimental. ***Centro de Microscopía Electrónica (CME), respectivamente. Apdo. 47114. Los Chaguaramos, Caracas 1041, Venezuela. E-mail: egarcia@reacciun.ve / hfinol@electra.ciens.ucv.vede

RECIBIDO: febrero 20, 2006.

ULTRASTRUCTURAL STUDIES ON EMBRYOGENIC AND NON EMBRYOGENIC CALLUSES FROM WILLIAMS' BANANA (*Musa spp.*)

Maribel del C. Ramírez V.*, Eva de García** y Héctor J. Finol***

SUMMARY

The ultrastructural studies of somatic embryogenesis are very important to understand and improve this morphogenetic process. In this sense the main objective of this research is the ultrastructural characterization of embryogenic and non embryogenic calluses from Williams' banana (*Musa spp.*). In the cells of both types of tissues, the cell wall (primary cell wall and middle lamella), plasma membrane, cytoplasm (endoplasmatic reticulum, vacuolar membrane and mitochondrias), and vacuoles, were observed. The CNE presented a less dense cytoplasm and thin walls. The CE showed small isodiametric cells, with small vacuoles and thick walls.

Key Words: Somatic embryogenesis; ultrastructure; *Musa spp.*

1 Trabajo financiado parcialmente por el FONACIT a través del Proyecto G 9 7000 700, otorgado a la Dra. Eva de García. Esta investigación forma parte del Proyecto de Tesis Doctoral "Caracterización morfoanatómica, ultraestructural y bioquímica de los procesos relacionados con la embriogénesis somática en *Musa spp.*".

* Estudiante de Postgrado en Botánica y Profesora del Departamento de Botánica. La Universidad del Zulia (ULA). Facultad de Agronomía. Apdo. 15205. ZU4005. Email: mcramire@cantv.net.

** Profesores. UCV. Facultad de Ciencias. Laboratorio de Biotecnología Vegetal. Centro de Botánica Tropical. Instituto de Biología Experimental. ***Centro de Microscopía Electrónica (CME), respectivamente. Apdo. 47114. Los Chaguaramos, Caracas 1041, Venezuela.
Email: egarcia@reacciun.ve / hfinol@electra.ciens.ucv.vede

RECIBIDO: febrero 20, 2006.

INTRODUCCIÓN

La embriogénesis somática es un proceso morfogénético que permite obtener altos volúmenes de producción de plantas clonadas, en un período de tiempo corto y con menores costos. No obstante, su empleo para la propagación comercial de banano aún es escaso. Una posible explicación de este fenómeno a nivel mundial está relacionada primero con el desconocimiento que existe sobre la biología del proceso, unido a la no disponibilidad de sistemas eficientes y reproducibles de regeneración (Barranco, 2001).

Por otra parte, el establecimiento de suspensiones celulares embriogénicas no se considera un procedimiento común porque presenta varios inconvenientes entre éstos que pocos callos o complejos embriogénicos produzcan una buena suspensión celular (Schoofs *et al.*, 1999).

Por tal motivo, este trabajo tuvo como objetivo caracterizar ultraestructuralmente callos embriogénicos (CE) y no embriogénicos (CNE) de banano Williams, con el fin de aportar nuevos datos que faciliten el conocimiento del proceso embriogénico en banano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron CE y CNE de banano Williams de flores masculinas inmaduras (1,5-2 cm de largo) cultivadas en medio Escalant *et al.* (1994), durante 9 meses, bajo oscuridad y 26 ± 1 °C. El procesamiento de las muestras para su observación al microscopio electrónico (ME) de transmisión (Philips CM-10) se hizo en el CME-UCV con la técnica de corte fino: a) Fijación en solución Karnovsky (glutaraldehído al 2,5% y formaldehído al 37%) en buffer fosfato Millonig (BFM) 0,2 M (pH 7,4; osmolaridad 320 mOsm) por 5 d, 4 °C; b) Postfijación en OsO₄ (1%) en BFM por 7 d, 4 °C; c) Deshidratación ascendente con etanol al 10, 30, 50, 70, 95 y 100% por 1 h cada uno; d) Infiltración en óxido de propileno (OP) (100%) por 1 h, cuatro veces. Luego en OP y resina (EMbed-812) proporciones 1:1, 1:2 y 1:3 por 24 h; e) Inclusión en resina pura por 1 h, cuatro veces. La última se dejó a 60 °C por 10 d para que polimerice; f) Corte de muestras (60 a 90 nm) con cuchilla de diamante en el ultramicrotomo; g) Contrastación de los cortes finos en acetato de uranilo (2%) -60 °C por 30 min- y citrato de plomo.

Para el ME de barrido (Hitachi S500), las muestras se procesaron hasta etanol absoluto y después se aplicó el método de desecación en punto crítico (Hitachi HCP-2), y luego se cubrieron con oro (Giko Engineering E-IB-2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las células de CE de banano se observaron algunos componentes de la pared celular (PC) y del protoplasto (PRO) (Figura A,B). De la PC se apreció la pared celular primaria (PCP) y la laminilla media (LM). El PRO -rodeado por PC- incluyó la membrana plasmática (MP) y todo lo que ella encierra. Del citoplasma se encontró: 1) MP ubicada entre PC y el protoplasma. 2) Sistema de endomembranas, que participa en la producción de organelos citoplasmáticos, entre ellos el retículo endoplasmático (RE), membrana vacuolar (MV) y aparato de Golgi (AG).

El RE correspondió al tipo rugoso (RER), el cual tiene unidos muchos ribosomas. El AG constó de varias unidades (dictiosomas), probablemente conectadas entre sí. 3) Ribosomas (R) dispersos en el citoplasma o asociados al RER de cada célula. 4) Mitocondrias observadas como pequeños organelos ovalados en el citoplasma. En su parte interna se evidenciaron crestas mitocondriales (Figura B).

En el CNE se detectaron PCP, LM, MP, citoplasma (RER, MV, R y M) y vacuolas grandes (Figura C,D) y el contenido citoplasmático fue menor y la PC delgada. Las células de CE fueron pequeñas, isodiamétricas (Figura E) con citoplasma denso, vacuola pequeña y pared gruesa, y las de CNE grandes, alargadas y laxas (Figura F). Estos resultados tienen semejanza con otros trabajos (Menéndez y García, 1997; Trujillo y García, 1999; Lerma *et al.*, 2002).

AGRADECIMIENTO

A la Histotecnóloga Soffa Mayora, la Lic. Nuri Díaz y el Lic. Ander De Abrisqueta por su colaboración en la preparación de las muestras y la obtención de las micrografías electrónicas de transmisión y barrido.

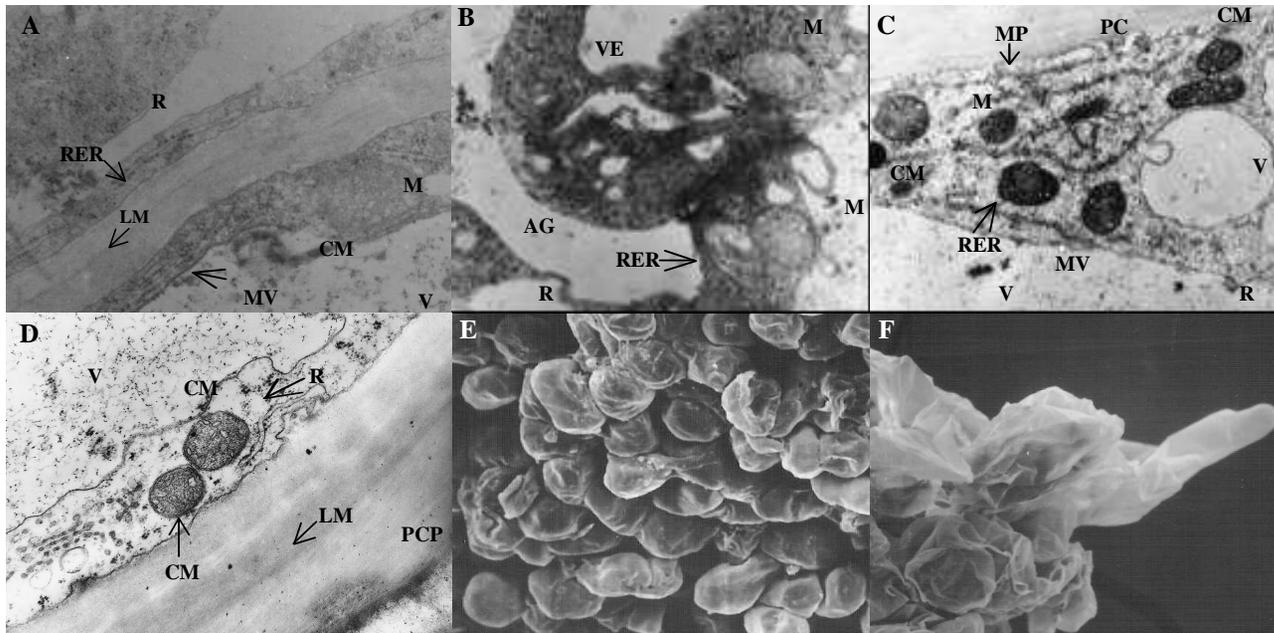


FIGURA. Micrografías electrónicas de transmisión (A-D) y barrido (E, F) de células de callo embriogénico (A, B, E) y no embriogénico (C, D, F) de banano Williams. Componentes observados: Pared celular (PC). PC primaria (PCP). Laminilla media (LM). Membrana plasmática (MP). Mitochondria (M). Cresta mitocondrial (CM). Retículo endoplasmático rugoso (RER). Ribosoma (R). Vacuola (V). Membrana vacuolar (MV). Aparato de Golgi (AG). Vesícula (VE). A) 10 000X. B) 51 000X. C) 39 000X. D) 66 000X. E) 450X. F) 200X.

BIBLIOGRAFÍA

BARRANCO, L. 2001. Embriogénesis somática en banano (*Musa* AAAB, cv. FHIA-18) empleando medios de cultivos líquidos. Resumen de la Tesis Doctoral. Santa Clara, Cuba. Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Instituto de Biología de las Plantas. 37 p.

ESCALANT, J., C. TEISSON and F. CÔTE, 1994. Amplified somatic embryogenesis from male flowers of triploid banana and plantain cultivars (*Musa* spp.). *In vitro* Cell Dev. Biol. Plant. 30:181-186.

LERMA, S., P. ACUÑA, A. RIVEROS y J. SANDOVAL. 2002. Tasa de multiplicación y potencial de regeneración de embriones somáticos de una suspensión celular de banano (*Musa* AAA cv. “Gran enano”). *InfoMusa* 11:38-44.

MENÉNDEZ, A. and E. GARCÍA, 1997. Morphogenic events during indirect somatic embryogenesis in coffee “Catimor”. *Protoplasma* 199:208-214.

TRUJILLO, I. and E. GARCÍA. 1999. Somatic embryogenesis *in vitro* of *Musa* clones. *FYTON* 64:7-17.

SCHOOFS, H., B. PANIS, H. STROSSE, A. MAYO, J. LÓPEZ, N. ROUX, J. DOLEZEL y R. SWENNEN. 1999. Cuellos de botella en la generación y mantenimiento de suspensiones celulares morfogénicas de banano y la regeneración de las plantas vía embriogénesis somática a partir de ellas. *InfoMusa* 8:3-7.