

OBSERVACION DE ALGUNOS TEJIDOS Y CELULAS VEGETALES

Por: Ramiro Fonnegra G.*
José Santa S.*

INTRODUCCION

A. Cortes a Mano Libre.

No debe pasarse por alto la importancia de la técnica de secciones a mano libre. Van Fleet (1954) la ha usado para estudios de enzimas (Jensen, 1962). Similarmente, muchos estudios en histoquímica microscópica de lípidos y de materiales de la pared celular se basan en secciones a mano libre.

Para elaborar este tipo de preparaciones en forma exitosa se deben utilizar materiales con suficiente rigidez para resistir el impacto de la cuchilla, pero que no sean muy duros. Algunos materiales leñosos pueden ser cortados de este modo. El material puede utilizarse en fresco o fijado, pero no requiere infiltración en parafina.

Las direcciones escritas son de poco valor instruccional para este tipo de trabajo. La paciencia, la experiencia, y quizás las habilidades inherentes del experimentador son el principal requisito. Un hábil y experimentado trabajador puede obtener por este método secciones extremadamente delgadas.

Estos métodos reciben muy poca atención en docencia e investigación. A menudo no nos percatamos que, aunque rudimentarios nos proporcionan excelentes preparaciones para la enseñanza. El estudiante, quien colecciona sus propios materiales, logra un entendimiento de la estructura vegetal que no podría obtener confiándose en una preparación sofisticada. Se podría evitar mucho esfuerzo inútil en la investigación por medio de un trabajo preliminar basado en secciones a mano libre.

El método más rápido y simple consiste en tomar un pedazo de material, fresco o preservado, y rebanarlo con una barbera o con una cuchilla de afeitado (ver figura No.1).

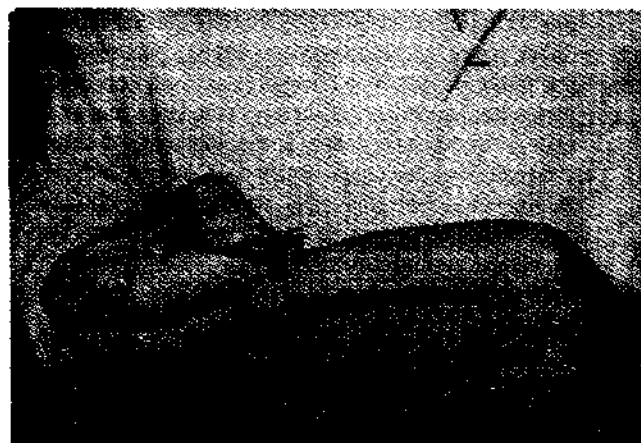


Figura No.1.
Manera de elaborar cortes a mano libre.

El corte obtenido debe ser tan delgado que se puedan observar las letras de la cuchilla a través de él.

Si el material que se va a seccionar es muy delgado (hojas) su corte se puede facilitar por la introducción previa de éste dentro de un pedazo de médula de saúco (*sambucus nigra L.*) o de corcho.

Para ello, tome un pequeño cilindro de médula y hágale una muesca (o un hueco) de tamaño apropiados para recibir el espécimen. Amarre el pedazo de médula con un hilo y remoje la preparación en agua. La médula se expande y encierra fuertemente el material en tal forma que se pueden obtener cortes con una cuchilla afilada.

**¡NUNCA UTILICE CUCHILLAS USADAS.
SI DESEA EXITO EN SU TRABAJO
EMPLEE CUCHILLAS NUEVAS Y
DE BUENA CALIDAD!**

* 1 y 2. Profesores Depto de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín.

Tanto el tejido como la cuchilla deben permanecer húmedos. Las secciones obtenidas se colocan a flotar en una caja de petri que contiene agua destilada. El tratamiento posterior de las secciones depende del objetivo que nos proponamos: Preparar placas permanentes o para simple observación. La presente práctica tiene como centro el segundo objetivo. Con una pinza de punta fina seleccione el corte más delgado y menos oblicuo colóquelo en la solución del colorante por 30 segundos. Como colorantes se pueden utilizar el azul de metileno al 1o/o o azul de toluidina al 0.05o/o.

El azul de metileno colorea con diferentes intensidades de acuerdo a la composición química de la pared. En cambio el azul de toluidina es más ventajoso porque es un colorante discriminativo que reacciona con dicha pared de la siguiente manera: Con celulosa toma un color rosado o lila (parénquima), con lignina se torna azul-verdoso (fibras) y con suberina se torna rojo o negruzco (felema). Retire el corte del colorante y enjuáguelo con agua destilada. Colóquelo en el porta-objetos sobre una gota de agua. Cúbralo con el cubreobjetos y observe al microscopio con objetivo de menor y mayor aumento.

B. Maceración.

Los montajes *in toto* o secciones de tejido, frecuentemente no nos dan una impresión tridimensional adecuada de la estructura celular. Un tipo de preparación muy despreciado, pero útil, consiste en aislar células individuales y completas de la masa del tejido. Esta separación está acompañada de procesos químicos y mecánicos. En la literatura se describen numerosos métodos de maceración (Brooks, Bradley and Anderson, 1950; Jensen, 1962; Johansen, 1940). En el pasado, muchos investigadores han usado el método de Jeffrey para maceración, el cual consiste en usar volúmenes iguales de ácido crómico al 10o/o y ácido nítrico al 10o/o. Este método a veces es difícil de controlar y los resultados son variables. El método que describiremos incluye el uso de "Perhidrol" (peróxido de hidrógeno) y ácido acético como fluidos de maceración.

PROCEDIMIENTO

Para madera de angiospermas se sugiere mango (*Mangifera indica* L.) o guayabo (*Psidium guajaba* (L.) Radd). Para madera de gimnosperma se sugiere el ciprés (*Cupressus sp.*) o el pino (*Pinus sp.*). La madera de su lápiz por lo general es de gimnosperma.

1. Corte la muestra de madera en pedacitos como la mitad de un fósforo y colóquelo en un frasquito que contenga una solución formada por:

1 parte de "perhidrol" (Solución de H₂O₂ al 30 o/o).
4 partes de agua destilada.
5 partes de ácido acético glacial.

2. Coloque los frasquitos en una estufa a una temperatura aproximada de 56oC por 3 días. Tape los frasquitos bien tapados.
3. Cuando se complete la maceración, el fluido estará claro y los segmentos serán blancuzcos o traslúcidos. El material puede permanecer intacto, pero las células deben separarse fácilmente con una ligera presión de las pinzas o una aguja de disección. Si el material no está como se describió, agregue fluido de maceración fresco y permítale actuar por 24 a 48 horas adicionales.
4. Una vez terminada la maceración, lave con 3 cambios de agua destilada (varias horas entre cambio y cambio) y deje el material en agua durante la noche. Déle al material una lavada final en agua destilada.
5. Almacene el material para uso posterior en Safranina al 1o/o en alcohol al 50o/o.

El procedimiento anterior también se puede seguir para macerar las esclereidas del coco (*Cocos nucifera* L.). Para ello, tome el endocarpio del coco (parte dura), raspe una pequeña porción y colóquela en la solución maceradora.

MATERIALES Y METODOS

A. Observación de Epidermis.

Tome una hoja de tradescantia o suelda con suelda (*Setcreasea purpurea* Boon), dóblela sobre el haz de tal manera que se haga un quiebre en el envés de la hoja; utilizando unas pinzas de disección o con la ayuda de las uñas, extraiga un pedazo de la epidermis. Si la ha extraído correctamente se presentará como una delgada lámina traslúcida y uniforme. Móntela sobre un porta-objetos con una gota de agua evitando la formación de burbujas, cúbrala con el cubre-objetos y observe al microscopio (no requiere coloración). Localice y describa brevemente las células epidérmicas ordinarias, las células de guarda, las células subsidiarias y el estoma. Haga un gráfico de varias células señalando sus estructuras y responda las siguientes preguntas:

1. ¿Observa sustancias coloreadas dentro de la vacuola, citoplasma u otra estructura celular?
¿Qué color tiene y qué es esta sustancia?
2. ¿Qué es un estoma y cuál es su función?
3. ¿Cuáles células epidérmicas poseen cloroplastos y qué implicaciones tienen estos cloroplastos en la apertura y cierre del estoma?

4. ¿Cree usted que solamente existen estomas en la epidermis inferior de la hoja? Explique su respuesta.
5. ¿Qué es y dónde está localizada la cutícula?
¿Cuál es su función? En esta práctica se recomienda usar las hojas de suelda con suelda, ya que se prestan para extraer la epidermis fácilmente; pero pueden ser usadas las hojas de cualquier planta. Si la hoja no es carmosa, rásguela oblicuamente y con una cuchilla corte un pedazo de epidermis inferior, la cual se presentará como una lámina traslúcida. Móntela al microscopio de la manera ya descrita. Igualmente la epidermis se observa con facilidad en los tallos jóvenes de las plantas que usted utilizará en esta práctica; identifíquela y determine si hay presencia o no de tricomas y si éstos son o no ramificados. Haga gráficos de sus observaciones.

Observación de Colénquima.

Haga un corte transversal a mano libre, de pepino de lulo (*Solanum quitoense* L.) o en el tallo de girasol (*Helianthus annuus* L.), cadillo (*Xanthium occidentale* Benth), besito (*Impatiens balsamina* L.) o cualquier otro tallo de dicotiledónea herbácea.

Colorée el corte de la manera ya indicada, móntelo en un porta-objetos con una gota de agua, coloque el cubre-objetos y observe al microscopio. Fije su atención en el colénquima, tejido formado por 3 ó 4 capas de células y que en plantas dicotiledóneas, se encuentran inmediatamente debajo de la epidermis.

Haga un gráfico que incluya varias células, señale sus estructuras y responda las siguientes preguntas:

1. ¿Cuáles son las características de las células de colénquima?
2. ¿Cuál es la función de este tejido y cómo es la adaptación para dicha función?
3. ¿Las células del colénquima son vivas o muertas? Explique su respuesta.
4. ¿Poseen únicamente pared primaria o pared primaria y secundaria?

C. Observación de Esclerenquima.

1. Fibras Esclerenquimáticas.

Haga un corte transversal a mano libre del tallo de plantas monocotiledóneas. Puede utilizar el tallo de la espiga de maíz (*Zea mays* L.) o el tallo de papiro (*Cyperus* sp.). Colorée y observe al microscopio; concentre su atención en las fibras esclerenquimáticas localizadas inmediatamente debajo de la epidermis de plantas monocotiledóneas o rodeando los haces vasculares de estas plantas. Igualmente se encuentran junto al floema, en la parte externa de los haces vascular-

res de las plantas dicotiledóneas. Haga un gráfico de sus observaciones, mostrando detalles de la pared celular y el lumen y responda las siguientes preguntas:

- a) ¿Cuáles son las características de las fibras esclerenquimáticas vistas en corte transversal?
- b) ¿Cuál es la función de estas fibras?
- c) Las fibras esclerenquimáticas son células vivas o muertas? Explique su respuesta.
- d) ¿Qué diferencia observa entre estas fibras y las células de colénquima, observadas en sección transversal?
- e) ¿Poseen pared primaria solamente o pared primaria y pared secundaria?

2. Esclereidas o Células Pétreas.

Haga un macerado de una porción de fruto maduro de pera (*Pyrus comminus* L.) o del endocarpio del coco (*Cocos nucifera* L.), prepare una placa de este macerado, obsérvela al microscopio. Haga una gráfica de varias esclereidas y responda las siguientes preguntas:

- a) ¿Cuáles son las características de las esclereidas?
- b) ¿Este tipo de células son vivas o muertas?
- c) ¿A qué es debida la sensación arenosa que usted siente al comer fruto de pera?
- d) ¿Esta célula tiene pared primaria solamente o pared primaria y secundaria?
- e) ¿Establezca la diferencia entre fibras esclerenquimáticas y esclereidas?

D. Observación de Parénquima.

Haga un corte transversal a mano libre en tallo de novio (*Pelargonium Zonale* L. Willd), girasol, cadillo o cualquiera otra planta dicotiledónea herbácea. Colorée y observe al microscopio. Preste especial atención al parénquima, tejido que en tallos de plantas dicotiledóneas, se encuentra a continuación del colénquima o en la parte central del cuerpo del tallo constituyendo la MEDULA. Haga un gráfico que incluya varias células y responda las siguientes preguntas:

1. ¿Cuáles son las características de las células del parénquima?
2. ¿Qué funciones desempeñan estas células y qué adaptaciones presentan para realizar cada una de las funciones citadas?
3. ¿Las células del parénquima son vivas o muertas? Explique su respuesta.
4. ¿Poseen pared primaria solamente o pared primaria y secundaria?

Si el material por usted empleado está joven, fácilmente encontrará el parénquima con cloroplastos (clorénquima), ocupando las primeras capas de las células parenquimáticas a continuación del colénquima. Haga observación y gráfico de este tejido y diga cuál es su función.

Haga un corte transversal a mano libre de tallo de papiro, colorée y observe al microscopio. Note que en esta planta, las células del parénquima se arreglan formando una especie de Y, dejando grandes espacios intercelulares. Este conjunto recibe el nombre de *AERENQUIMA* y da al tallo un aspecto esponjoso. Observe este tejido y diga cuál es la función de estos grandes espacios intercelulares.

E. Observación de Tejidos Vasculares.

1. Haz Vascular.

Utilice el corte transversal de girasol o el de cadillo. Localice los haces vasculares. En estas plantas cada haz vascular está formado por floema al exterior, xilema al interior y cambium vascular entre floema y xilema. Haga un gráfico del haz vascular señalando los tejidos antes mencionados. Compárelo con el haz vascular del tallo de una planta monocotiledónea tal como maíz o papiro. Responda las siguientes preguntas:

- a) ¿Qué tipos de células hacen parte del floema? Son células vivas o muertas? Explique sus respuestas.

- b) ¿Cuáles son las funciones de cada una de estas células?
 c) ¿Qué diferencia encuentra entre los haces vasculares de tallo de dicotiledónea y el de monocotiledónea?

2. Elementos de Xilema..

Prepare macerados de madera (xilema secundario) de angiosperma y de gimnosperma. Tome una gota del macerado ya coloreado en safranina, prepare una placa y obsérvela al microscopio. Identifique las células de xilema (elemento de vaso, traqueidas, fibras y parénquima de xilema). Haga gráficas de lo observado y responda las siguientes preguntas:

- a) ¿Cuáles de estas células son vivas y cuáles son muertas?
 b) ¿Cuáles poseen solamente pared primaria?
 c) ¿Cuál es la composición química de la pared celular en cada uno de estos elementos?
 d) ¿Qué función desempeña cada una de las células del xilema?
 e) ¿Cuáles elementos celulares constituyen la madera de angiosperma y cuáles se encuentran en la gimnosperma?

Para la discusión de los interrogantes propuestos serán de mucha utilidad los libros de ESAU (1972), Fahn (1962) y Weier et al (1967).

BIBLIOGRAFIA

- Brooks, R. M., M. V. Bradley and T. I. Anderson. 1950. Plant microtechnique Manual. Department de Pomology, Univ. of California. Davis.
- ESAU, K. 1972. Anatomía Vegetal. Ed. Omega, Barcelona.
- Fahn, A. 1967. Plant Anatomy. Pergamon Press, New York.
- Jensen, W. A. 1962. Botanical Histochemistry. W. H. Freeman and Co. San Francisco.
- Johansen, D. A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw Hill Book Co. New York.
- Sass, J. E. 1958. Botanical Microtechnique. Iowa State Univ. Press, Ames.
- Weier, T., R. Stocking, and J. Tucker. 1967. Botany, a laboratory manual. John Wiley and Sons Inc. New York.