

ANÁLISIS HISTOLÓGICO DEL CALLO PRODUCIDO POR HOJAS DE *Begonia x tuberhybrida* CULTIVADAS *in vitro*

Hernández Pimentel, Ma. V.; S. Tavera Martínez

Laboratorio de Fisiología Vegetal, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N. Prolg. Carpio y Plan de Ayala, Col. Santo Tomás, Deleg. Miguel Hidalgo, C.P. 11340.

RESUMEN. Se realizaron cortes histológicos del callo producido por hojas de *Begonia x tuberhybrida* cultivadas *in vitro*. El callo estuvo constituido por células parenquimatosas y por centros meristemáticos que se organizan en promeristemos, los cuales dan origen a los brotes.

PALABRAS CLAVE: Promeristemos, begonia, cultivo de tejidos.

HISTOLOGIC ANALYSIS OF CALLUS PRODUCED BY LEAVES OF *Begonia x tuberhybrida* DEVELOPMENT *in vitro*

SUMMARY. Callus cultures from leaf sections of *Begonia x tuberhybrida* were examined by histological technique, Peryodic Acid Schiff (PAS). Parenchymatous cells and aggregate of meristematic cells forming meristematic centers and promeristems, were observed in callus examined.

KEY WORDS: Promeristems, begonia, tissue culture.

INTRODUCCION

La *Begonia x tuberhybrida* es una planta de interés comercial como planta de ornato. Tradicionalmente, su propagación se hace por esquejes de tallo, hoja y por brotación de tubérculo (Corbertt, 1964; Del Cañizo, 1977; Salmerón, 1981; Márquez, 1987 y Larson, 1988). Sin embargo, para lograrlo se requiere de condiciones adecuadas de temperatura, luz, humedad, etc. (Larson, 1988). Por los métodos de propagación vegetativa y por cultivo de tubérculos se requiere de un tiempo considerablemente largo para la obtención de plantas y el número logrado de éstas es reducido, ya que no se pueden hacer más de diez cortes por planta grande (40 a 50 cm de altura) y no más de seis a ocho divisiones de un tubérculo grande (4 a 6 cm de diámetro) (Peck y Cumming, 1984), por lo anterior, se considera que *Begonia x tuberhybrida* Voss, puede ser propagada masivamente por la técnica de cultivo de tejidos vegetales. La técnica también facilita la realización de estudios morfogénéticos, habiéndose realizado numerosos trabajos en este sentido con diversas especies (Winton, 1978; Tran Thanh Van, 1981 y Cristianson y Warnick, 1988).

La propagación *in vitro* de *Begonia x tuberhybrida* fue realizada por Peck y Cumming (1984) quienes utilizaron como fuente de explante a las hojas. Al repro-

ducir las condiciones que ellos establecieron, observamos que una regeneración abundante de brotes ocurre por la vía de la organogénesis indirecta, interesándonos entonces por los eventos histológicos que dan lugar a este proceso.

METODOLOGIA

Se cultivaron explantes provenientes de hojas maduras de *Begonia x tuberhybrida* en el medio de Peck y Cumming (1984). Los explantes que mostraron respuesta fueron fijados, a los 30 días del cultivo, en una mezcla de formol-ácido acético-etanol (FAA) por 24 horas y procesados para su inclusión en parafina (Johansen, 1940). Los cortes histológicos de 10 a 12 micras se tiñeron con la técnica del ácido peryódico-reactivo de Schiff (PAS) combinada con hematoxilina (Deleón, 1983).

RESULTADOS

Las divisiones celulares que dan lugar a la formación de tejido indiferenciado se inician a partir de células parenquimatosas cercanas a los haces vasculares (Figuras 1a y b). Ese callo proveniente de explantes de 30 días en cultivo, el cual estuvo constituido por células parenquimatosas grandes y vacuoladas con núcleos pequeños (Figura 2 a); algunos grupos de estas célu-

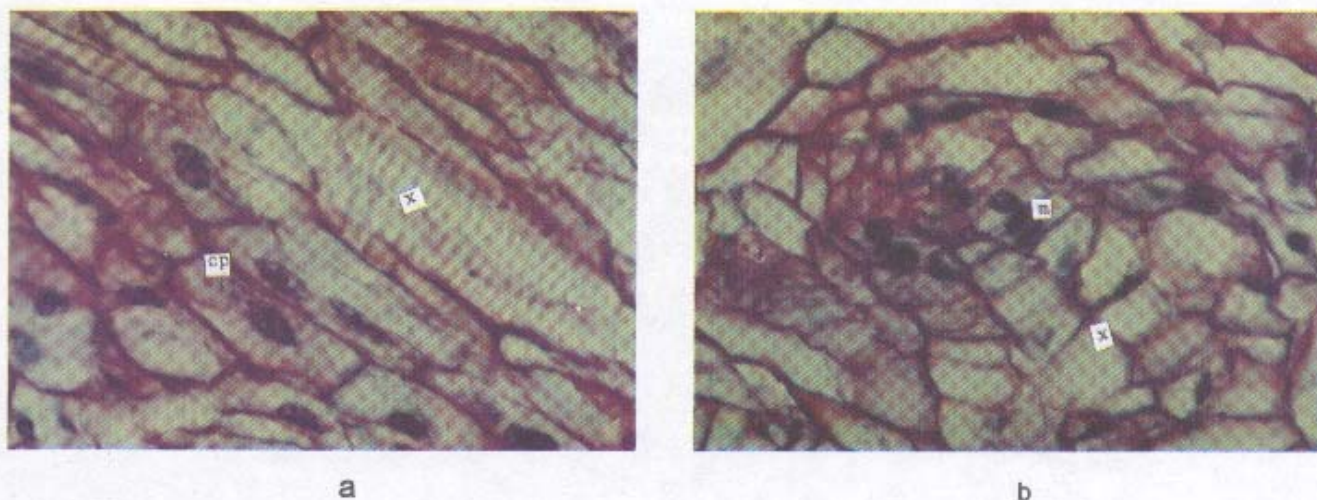


Fig. 1. Proliferación de células a partir de explantes de hoja de *Begonia x tuberhybrida* (técnica: PAS, 1715X).

a) Células parenquimatosas cercanas a los haces vasculares.

b) Célula en mitosis cerca del xilema.

cp = Células parenquimatosas, X = Xilema, m = mitosis.

las, se ubicaron hacia la periferia del callo, mostrando abundante acumulación de carbohidratos en la forma de gránulos de almidón (Figuras 2b y c).

Los agregados de células meristemáticas estuvieron inmersos en el callo parenquimatoso (Figura 3a). Estas células se caracterizaron por ser de tamaño pequeño, citoplasma denso, núcleos grandes y difusos así como nucleolos intensamente teñidos, las divisiones mitóticas fueron frecuentes (Figuras 3b y d), y conducen al aumento de la masa celular del agregado que finalmente constituye un centro meristemático o meristemoide y posteriormente un promeristemo (Figuras 3 c y d).

DISCUSION

Una organización similar del tejido calloso ha sido observada en otras especies como en *Medicago sativa* L., alfalfa (Hernández, 1989), *Saintpaulia ionantha* Wendl., violeta africana (Vázquez *et al.*, 1977); *Nicotiana tabacum* L., tabaco (Thorpe and Murshige, 1970), etc. Quienes informan también que la formación de centros meristemáticos es requisito previo para la diferenciación de otras estructuras, ya sean embriones somáticos, o bien, meristemos apicales de brote.

En relación a la acumulación de carbohidratos como gránulos de almidón, detectados por la técnica de PAS, es probable que esta característica esté relacionada con la formación de brotes. Thorpe y Meier

(1972), observaron que en los callos de tabaco, que forman brotes, el pico de acumulación de almidón se presenta justamente antes de la formación de meristemoides. Probablemente este almidón sea la fuente de energía requerida para la diferenciación de los brotes. Este es uno de los fenómenos que hace falta investigar en *Begonia x tuberhybrida*, además de la obtención de una secuencia del desarrollo de los brotes.

CONCLUSIONES

Una conclusión importante de todo este análisis es que, el callo que a simple vista parece ser una masa desorganizada de células presenta en realidad una estructura anatómica muy particular con características celulares bien definidas.

También se puede concluir que, la formación de centros meristemáticos es uno de los primeros eventos que conducen a la diferenciación de brotes a partir del callo proveniente de hojas de *Begonia x tuberhybrida*.

LITERATURA CITADA

- CHRISTIANSON, L.M.; D.A. WARNICK. 1988. Organogenesis *in vitro* as a developmental process. *HortScience* 23(3):515-519.
- CORBERTT, W. 1964. Cultivo de Plantas Ornamentales en Maceta. Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- DEL CAÑIZO, J.A. 1977. Plantas en el Hogar. 2da. Ed. Madrid, España.

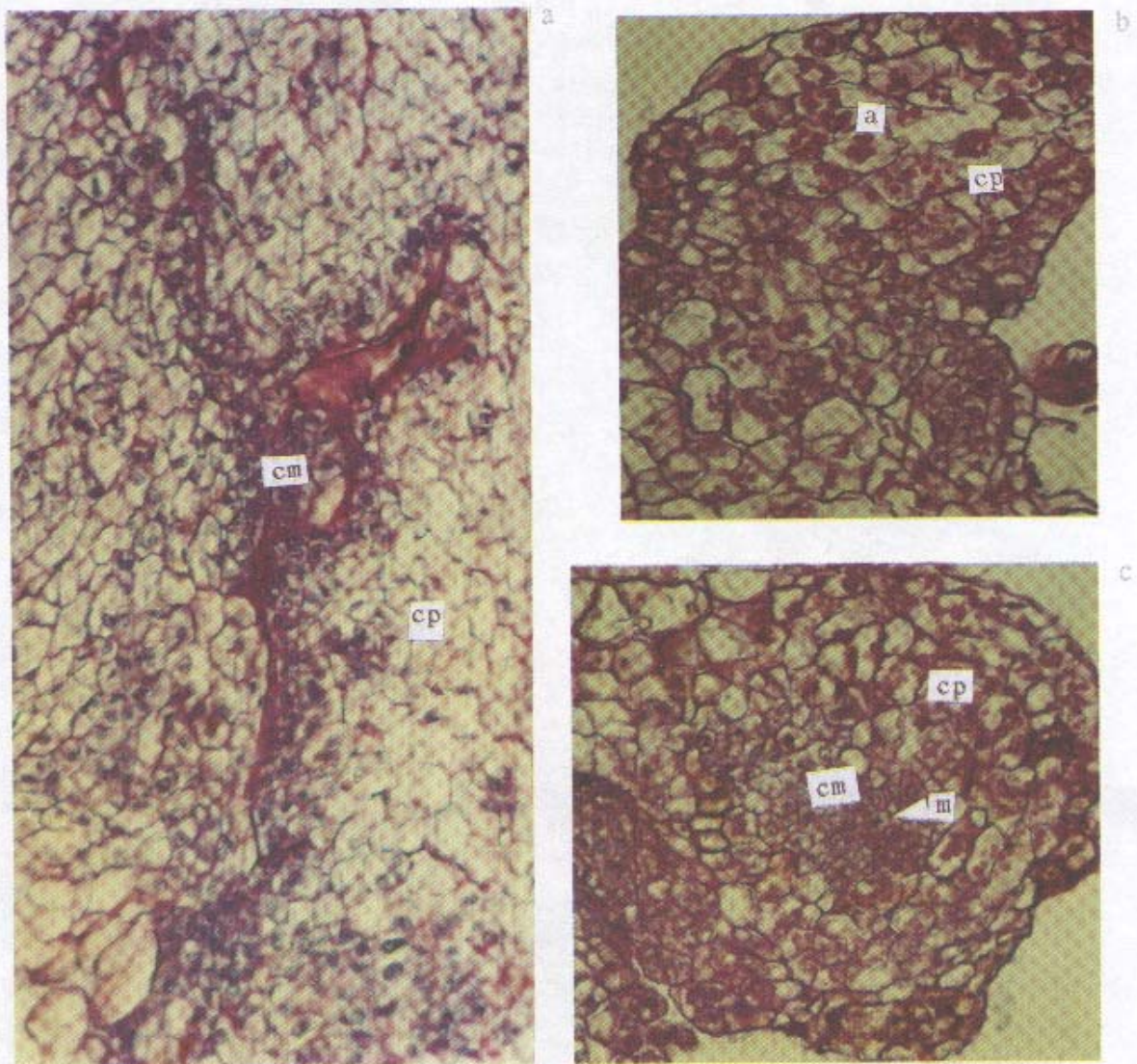


Fig. 2. Características anatómicas del callo de 30 días de cultivo (técnica PAS, 425X)

- a) Células parenquimatosas y zonas de células meristemáticas.
 - b) Células parenquimatosas con abundancia de gránulos de almidón.
 - c) Células meristemáticas con actividad mitótica rodeadas por células parenquimatosas con abundancia de gránulos de almidón.
- cp = células parenquimatosas, m = mitosis, cm = células meristemáticas, a = gránulos de almidón.

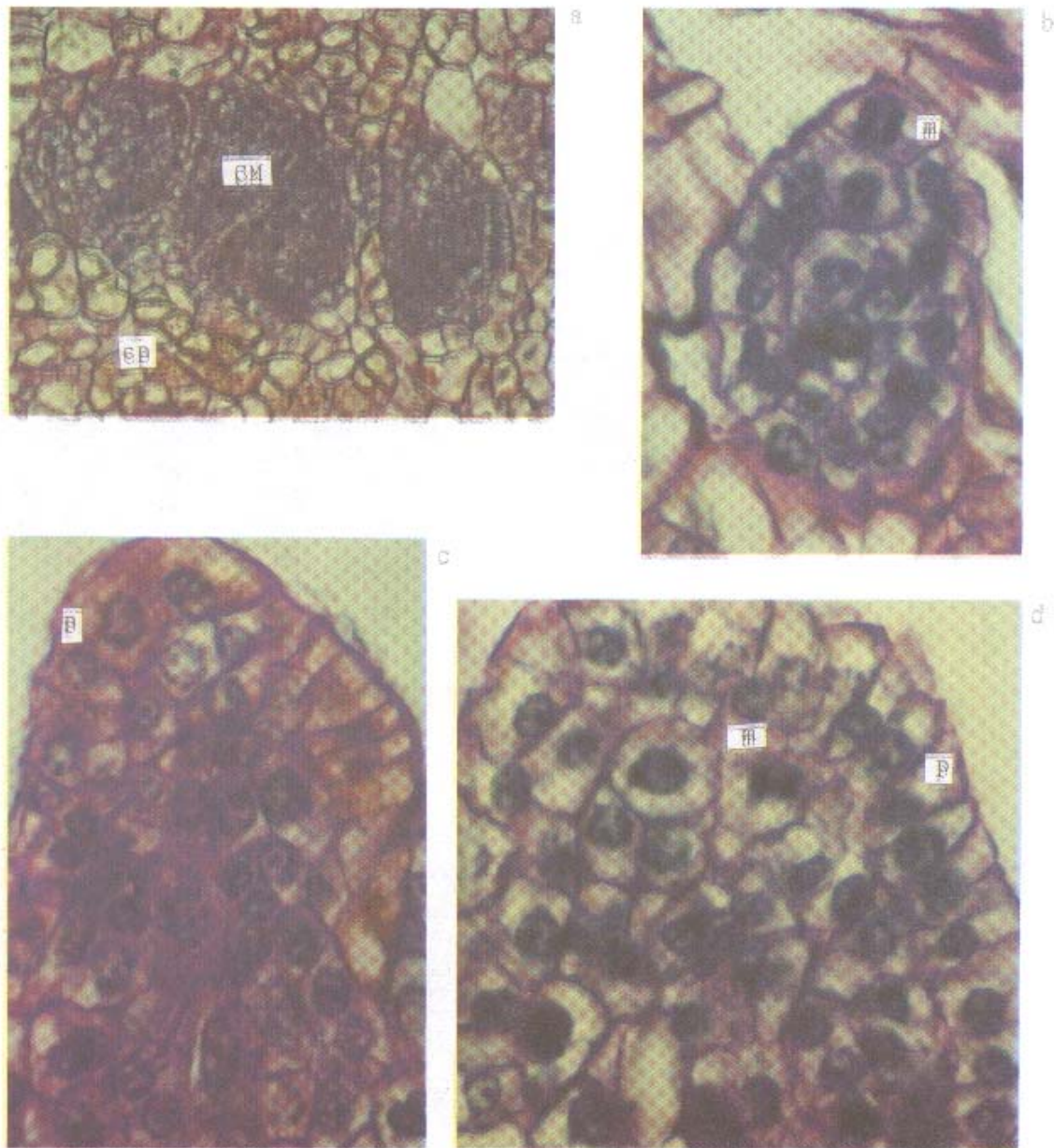


Fig. 3. La agrupación de células meristemáticas da lugar a centros meristemáticos y promeristemos (Técnica: PAS)

a) Centros meristemáticos inmersos en el callo parenquimatoso (425X)

b) Actividad mitótica en un centro meristemático (1715X)

c y d) La alineación de las células de la protodermis da lugar a un promeristemo (1715X)

cp = células parenquimatosas, m = mitosis, CM = centros meristemáticos, p = protodermis.

- DE-LEÓN, R. I. 1983. Manual de Citoquímica. Lab. de Citología. Depto. Morfología. ENCB, IPN.
- HERNÁNDEZ-PIMENTEL, M.V. 1989. Morfología y citoquímica de la ontogenia de los embriones somáticos de *Medicago sativa* L. var. A-70-34. Tesis profesional. ENEP. "Zaragoza" UNAM. México.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw Hill Book Co. Inc. USA.
- LARSON, A.R. 1988. Introducción a la Floricultura. AGT editor, S. A.
- MÁRQUEZ, B.J.L. 1987. Producción de flores. CESUES. Esc. Sup. Hort. Son., Méx.
- PECK, D.E.; B.G. CUMMING. 1984. *In vitro* propagation of *Begonia x tuberhybrida* from leaf section HortScience. 19:395-397.
- SAMERON, D.J. 1981. Las Flores y su Cultivo. 2da. ed. Ministerio de Agricultura, Madrid.
- THORPE, A. T.; D.D. MEIER. 1972. Starch metabolism, respiration and shoot formation in tobacco callus cultures. *Physiol. Plant.* 27:365-369.
- ; T. MURASHIGE. 1970. Some histochemical changes underlying shoot initiation in tobacco callus cultures. *Can J. Bot.* 48:277-285.
- TRAN THANH VAN, K.M. 1981. Control of morphogenesis *in vitro* cultures. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 32:291-311.
- VAZQUEZ, A.M.; M.R. DAVEY; K.C. SHORT. 1977. Organogenesis in cultures of *Saintpaulia ionantha*. *Acta Horticulturae* 78:249-258.
- WINTON, L.L. 1978. Morphogenesis in woody plants. *In* *Frontiers of Plant Tissue Culture*. A.T. Thorpe. (Ed.) University of Calgary, Canada.