

PRIMERA PRÁCTICA DE BIOTECNOLOGÍA:

¿CÓMO SON LAS CÉLULAS VEGETALES?

INTRODUCCIÓN A LA HISTOLOGÍA VEGETAL

Obtención de preparaciones de tejidos vegetales con técnicas sencillas

A diferencia de las células animales, las células vegetales tienen una pared celular rígida, formada por celulosa, hemicelulosa, pectina, y según el tipo celular, suberina, cutina, lignina, etc. Como estas moléculas confieren dureza y consistencia a la células, muchas veces se pueden obtener cortes de diferentes órganos de la planta, sin tenerlos que someter a un procesamiento histológico complejo. Además, estructuras como los tricomas, los granos de polen, o los vasos xilemáticos se pueden observar directamente al microscopio sin cortarlos antes. Por otra parte, muchos tipos celulares presentan pigmentos y, por lo tanto, tampoco necesitan ninguna tinción.

En definitiva, muchas estructuras vegetales pueden observarse y estudiarse a partir de preparaciones muy sencillas que no requieren el procesamiento histológico convencional.

OBJETIVOS

1. Realizar preparaciones histológicas de diferentes órganos vegetales mediante técnicas sencillas.
2. Observar e interpretar las características de diferentes células vegetales: epidérmicas, de sostén, parenquimáticas, vasculares, etc.

MATERIAL

- Portaobjetos y cubreobjetos
- Cuchilla
- Agua destilada
- Hoja de *Olea europea*, *Lavandula dentata*, *Lillium sp*, *Agave americana*. etc
- Bulbo de cebolla, tomates verdes y maduros, patatas, peras.
- Anteras de *Lillium sp* u otras plantas.
- Azul de metileno al 1 %, lugol, hematoxilina, eosina, verde luz, safranina, etc.

MÉTODOS

Observación de células vegetales epidérmicas del bulbo de cebolla y de la hojas de *Lillium sp* y de *Agave americana*.

La **epidermis** recubre el cuerpo de la planta y está formada por una sola capa de células vivas sin cloroplastos y con paredes celulares cutinizadas. Para asegurar el intercambio de gases, entre las células epidérmicas se encuentran los **estomas**, constituidos por dos células provistas de cloroplastos, que dejan un orificio el ostiolo, el cual se abre más o menos para graduar la transpiración de la planta de acuerdo con la temperatura y el grado de humedad.

La observación de las células epidérmicas puede realizarse fácilmente a partir de un bulbo de cebolla. También se puede separar la epidermis de una hoja de cualquier planta que se desee observar. Es interesante comparar la morfología de las células epidérmicas de las hojas de monocotiledóneas y dicotiledóneas, así como la diferente disposición que presentan los estomas en ambos tipos de plantas. Asimismo, los estomas de *Agave americana* y *Aloe vera* tienen una morfología muy interesante.

- Con unas pinzas se retira la capa fina y translúcida que está adherida a la cara interna de la parte cóncava de una de las “hojas carnosas” de un bulbo de cebolla.
- Se coloca en una placa de petri con agua destilada para conseguir que se desenrolle.
- Con la ayuda de una aguja enmangada y una cuchilla conseguir un trozo de 1 cm², aproximadamente, y colocarlo en un portaobjetos.
- Se cubre la muestra con unas gotas de azul de metileno durante 5 minutos. Es importante que la epidermis no se seque nunca.
- Con las pinzas y la aguja enmangada se sujeta la muestra y se lava con agua hasta que no tenga restos de colorante.
- Se añade una gota de agua y se cubre con un cubreobjetos.
- Observar la preparación al microscopio y realizar un esquema o dibujo de la misma. Compara la epidermis del bulbo de cebolla con la epidermis de la

hoja de diferentes plantas. Dibuja también la disposición de los estomas en cada una.

Observación de tricomas de diferentes especies de plantas

En la epidermis vegetal es muy frecuente la presencia de pelos o tricomas, apéndices formados de una o de varias células. Suelen tener una función específica, como por ejemplo 1) la absorción en el caso de la raíz, 2) reducir la transpiración de la planta, 3) proteger las hojas contra la radiación solar directa, 4) sostener los tallos en las plantas trepadoras, o 5) la secreción en el caso de los pelos glandulares.

Procedimiento para la observación de diferentes tricomas:

- a) A partir de hojas de olivo, lavanda, la encina, etc., se raspa el reverso sobre un portaobjetos en el que previamente se ha puesto una gota de agua.
- b) Se cubre la preparación con un cubreobjetos y se observa.

Observación de esclereidas

Las esclereidas son células de sostén que han lignificado mucho su pared y, por tanto, han muerto. Su función es aportar rigidez, por lo que son constituyentes fundamentales de los frutos secos, pero también pueden encontrarse en muchas partes de la planta. Por ejemplo, en tallos y hojas así como en la pulpa carnosa de la pera y la manzana, donde son responsables de la textura arenosa de estas frutas. Aunque para su observación no es necesario teñirlas, si lo deseas puedes realizar una preparación y teñirla con verde de metilo. Para ello:

- a) Pon un pequeño fragmento del mesocarpio (la pulpa) de una pera y colocarlo sobre un portaobjetos.
- b) Deposita unas gotas de verde de metilo y deja actuar durante 5 minutos. Retira el colorante con un papel de filtro y pon una gota de agua.
- c) Cube con cubreobjetos, coloca un trozo de papel de filtro encima y presiona ligeramente para que las células se disgreguen.
- d) Observa las esclereidas.

Observación de granos de polen de diferentes especies

Los granos de polen son los gametofitos masculinos y están situados en el interior de los sacos polínicos en las anteras de los estambres. La forma es más o menos ovoide miden unas cuantas decenas de micras de diámetro. Se componen, habitualmente, de dos células y, por lo tanto, dos núcleos haploides, donde el más grande es el núcleo vegetativo y el otro el núcleo reproductor.

El grano de polen está cerrado dentro de una cubierta resistente llamada exina, que dispone de unas aperturas o puntos de menor resistencia que permiten la emisión del tubo polínico destinado a fecundar el óvulo. Las ornamentaciones de la superficie de la exina son características de cada especie y suelen utilizarse en taxonomía.

Para observar al microscopio los grandes de polen,

- a) Espolvorear las anteras maduras de la planta escogida dentro de un frasco con alcohol de 70° o de 90° para fijar la muestra. La tendremos así durante 24 horas.
- b) Decantar el alcohol y lavar la muestra con agua destilada.
- c) Montar y observar la preparación.

Observación de vasos conductores

En las plantas superiores, constituyen un sistema distribuido a lo largo de toda la planta: desde las raíces hasta las hojas. Los tejidos vasculares comprenden:

- El **xilema**. Transporta el agua y las sustancias disueltas desde la raíz por toda la planta. Los elementos conductores son células alargadas en forma de tubo, con paredes lignificadas y sin contenido citoplasmático. Los vasos del xilema poseen unas paredes celulares gruesas muy lignificadas, con unos engrosamientos de la pared característicos en espiral.
- El **floema**. Conduce la savia con sustancias orgánicas por toda la planta. Está formado por células vivas, cuya pared presenta orificios con forma de criba en los tabiques transversales para permitir el paso de la savia de una célula a la otra.

Para observar vasos xilemáticos, realiza un corte longitudinal de un peciolo o de un tallo, lo más delgado posible.

- a) Deposítalo sobre un portaobjetos con una gota de agua y cúbrelo con un cubreobjetos. Presiona ligeramente con el dedo pulgar.
- b) Observa la preparación. Trata de buscar vasos anillados, que corresponden al xilema.

CUESTIONES

1. ¿Qué función tienen los colorantes en el procesamiento histológico de las muestras?
¿Es siempre necesario utilizarlos?
2. ¿Por qué es importante que las muestras que vamos a observar en el microscopio óptico sean muy delgadas?
3. ¿Qué función o funciones realizan los tricomas?
4. Dibuja la epidermis de la hoja de *Lilium sp.* Indica las diferencias que se observan entre las células epidérmicas y las células oclusivas del estoma.
5. Dibuja los diferentes granos de polen que has observado e indica las diferencias entre ellos.

BIBLIOGRAFÍA

DURFORT, M., *Iniciació a les tècniques histològiques vegetals i animals.*, Ed. Institut d'Estudis Catalans, Barcelona, 2006.

GARCÍA IRLES, M. *Manual de pràctiques de Citologia i Histologia Vegetal i Animal.* Materials docents en valencià. Col·lecció Joan Fuster. Universitat d'Alacant, 2009.