

Estudio de las células epidérmicas de la lima "Persa" (*Citrus aurantifolia*). Microscopia Óptica y Electrónica

J. RODRÍGUEZ, O. ANCHETA, J. B. KOURÍ Y M. E. RAMOS

Dptos. de Frutas y Vegetales y Biología Celular y Molecular, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de la Habana, Cuba

Recibido: 8 de diciembre de 1981

Recibido: 18 de marzo de 1983

ABSTRACT. Due to the importance of citrus on the international market a study was made on fresh fruits in order to describe their structural and ultrastructural characteristics to establish the fundamental bases of comparison with subsequent chilling injured tissues. The participation of organelles in damage is discussed.

RESUMEN. La aparición de daños por frío en el almacenaje de los frutos cítricos es objeto de estudio dada la importancia que reviste su aceptación o rechazo en el mercado internacional. El propósito de este trabajo ha sido describir la estructura y ultraestructura del tejido epidérmico de lima "Persa" (*Citrus aurantifolia*), a fin de establecer criterios que permitan comparaciones ulteriores. Se discuten los resultados en relación con la participación de los organelos intracelulares que pudieran estar implicados en la aparición del daño.

INTRODUCCION

La comercialización de los cítricos es un renglón muy productivo de nuestro mercado, dada la demanda de frutos frescos existentes tanto en el exterior como en nuestro país.

La conservación de los cítricos es difícil ya que muestran una alta sensibilidad a los cambios térmicos y el único modo de prolongar su vida útil es la refrigeración, asimismo se evita el ataque fúngico.

Al refrigerar los géneros cítricos a ciertas temperaturas se manifiesta su sensibilidad con la aparición de daños en la corteza producto de cambios en las células epidérmicas. Es por ello que hemos considerado necesario abordar el estudio a nivel celular para determinar la participación de los distintos organelos celulares en la producción del daño

que en el caso que nos ocupa es el picado (pitting), el cual se manifiesta como una zona parda deprimida de tejido necrosado que afecta en un inicio sólo la epidermis ya que en la zona del flavedo (tejido blanco esponjoso) no aparecen manifestaciones hasta etapas tardías¹⁻³.

Este daño ha causado grandes pérdidas en las distintas zafras de cítricos en nuestro país y es de destacar la zafra de 1977 de la toronja en la Isla de la Juventud, la cual se vio seriamente afectada por las pérdidas considerables que ocasionó⁴.

El objetivo de este trabajo es hacer un estudio en la fruta sin daño con el fin de conocer la estructura y ultraestructura de la célula normal con la finalidad de tener controles que nos permitan estudiar posteriormente el fruto dañado.

MATERIALES Y METODOS

Este trabajo se hizo sobre limas "Persas" verdes, sanas y frescas, en total se utilizaron 12 frutas a las cuales se les hicieron cortes para microscopía óptica y electrónica.

Para el estudio de la morfología del tejido de la corteza de la lima "Persa" se siguió el procedimiento descrito por Cohn⁵ con algunas modificaciones. Se usaron series crecientes de alcohol en la deshidratación, se incluyó en parafina, haciéndose cortes transversales de 10-15 μ en un micrótopo horizontal y se tiñeron en acetato carmín-eosina y safranina fast-green, haciéndose las observaciones en un fotomicroscopio Carl Zeiss.

Para microscopía electrónica se procesaron siguiendo la metodología descrita por Glauert y cols.⁶ con modificaciones. Los cortes se hicieron en un ultramicrotomo Ultrotome III de la LKB, y se post-contrastaron en acetato de uranilo y acetato de plomo según Reynolds⁷, posteriormente fueron observados en un microscopio electrónico HU-11A de la Hitachi.

RESULTADOS

En nuestras observaciones al microscopio óptico se comprobó la estructura característica de la corteza de los cítricos, formada por flavedo y albedo.

Flavedo

Constituido por un estrato de células epidérmicas, isodiamétricas y poligonales con muy poco espacio intercelular. Aquí aparece un gran número de estomas encargados de la transpiración del fruto, la pared de estas células presentan características cerosas y cutinización que impiden la salida del agua en exceso (Fig. 1.).

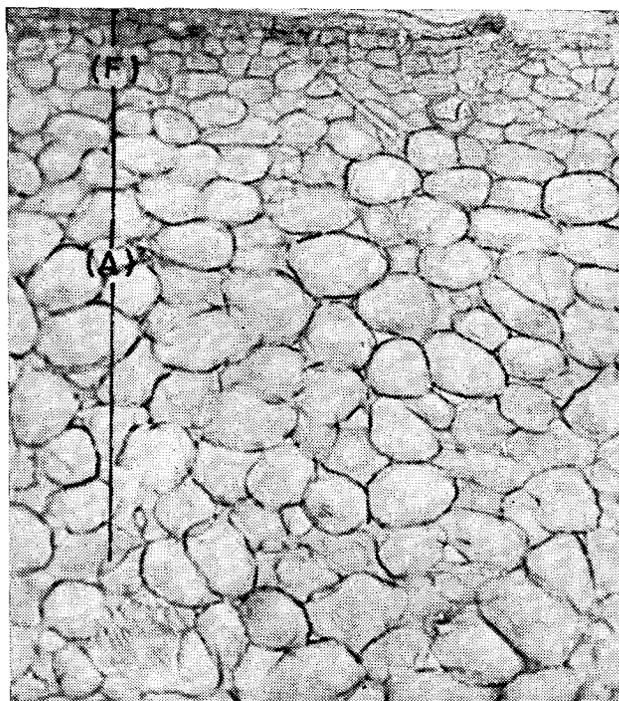


Fig. 1. Fotomicrografía óptica de la corteza de lima "Persa". Observe el flavedo (F) y parte del albedo (A). 225 x.

A continuación de la epidermis aparece el colénquima constituido por 2 ó 3 hileras de células que adquieren características especiales ya que las células colenquimatosas generalmente son grandes y de paredes gruesas y aquí se presentan como células pequeñas, compactas y de paredes relativamente finas.

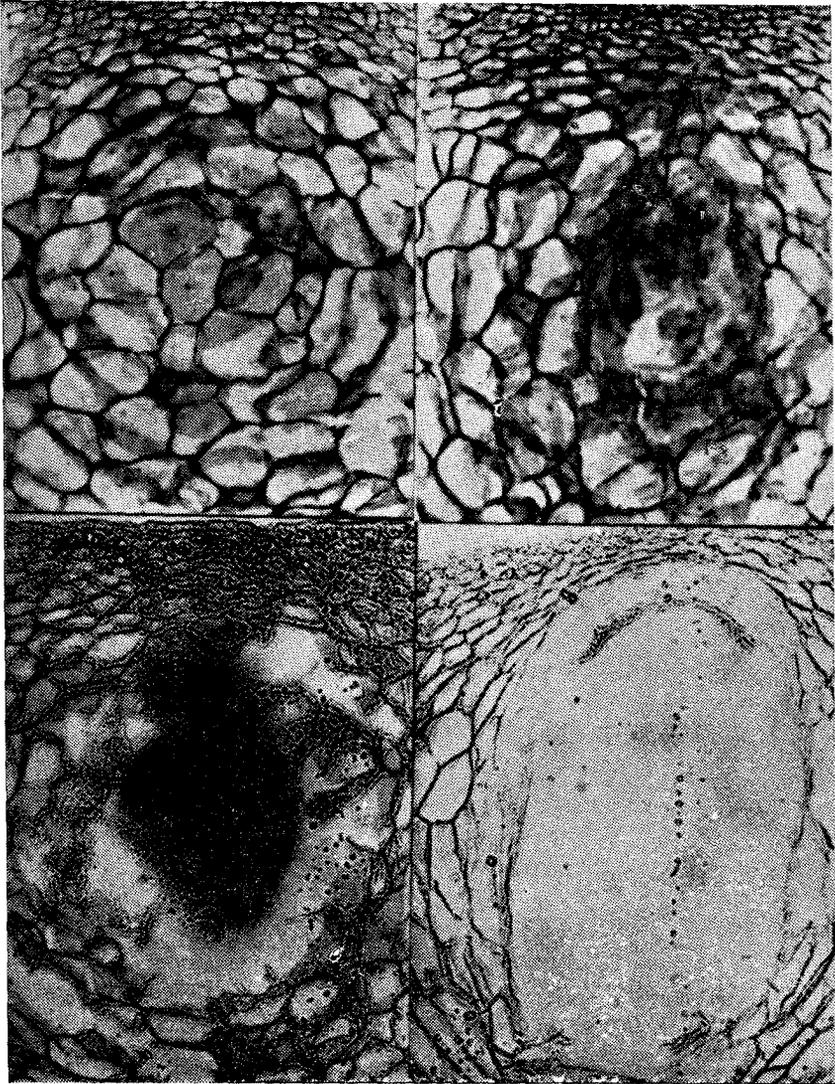


Fig. 2. Proceso de formación de una glándula de aceite (g.a.) en el tejido parenquimático del albedo. a. Disposición celular alrededor de una de contenido más denso. b. Observe disolución de las paredes para formar una cavidad. c. Cavidad. d. (g.a.) que muestra su pared de revestimiento constituida por una membrana.

El parénquima está a continuación del colénquima. Los primeros estratos de células parenquimatosas son pigmentados, éstas son de mayor tamaño y de pared relativamente gruesa.

Albedo

Formado por células parenquimatosas sin pigmentación, grandes y de pared gruesa que dejan entre ellas amplios espacios intercelulares que le confieren a este tejido la característica de "blanco y esponjoso".

En el parénquima tiene lugar la formación de las glándulas de aceite a través de un proceso de lisogenia⁸ por disolución de membranas y paredes (Fig. 2a). El punto de partida es una célula que llama la atención por su contenido más denso, que por divisiones sucesivas en distintas direcciones, va a formar un cuerpo de tejido que no presenta espacios entre ellas, diferenciándose fácilmente del tejido circundante.

Comenzando por el centro de este cuerpo denso (Fig. 2b) aparece un proceso de destrucción disolviéndose las membranas y paredes celulares, que dan lugar a la formación de una cavidad (Fig. 2c) a la cual van a confluír los productos de células vecinas, constituyendo así una cisterna o reservorio de aceite esencial. Esta cavidad está recubierta de una membrana (Fig. 2d).

Irrigando toda la corteza del fruto aparece una gran red de vasos xilemáticos y floemáticos que llevan los nutrientes a todas estas células (Fig. 3).

En los distintos cortes efectuados sobre la corteza de los frutos de lima "Persa" se ha observado al microscopio electrónico que sus células presentan:

Pared: Gruesa de densidad media al haz electrónico.

Membrana: Se observa como una línea densa (Fig. 4).

Núcleo: (Figs. 5 y 6) Presenta la envoltura nuclear muy bien definida y la cromatina dispersa formando pequeños concentrados de la misma hacia la periferia (Fig. 5). Se destaca el nucleolo que puede tener distintos tamaños, densidad homogénea y se encuentra ya sea en el centro del núcleo y desplazado hacia la envoltura nuclear (Fig. 6).

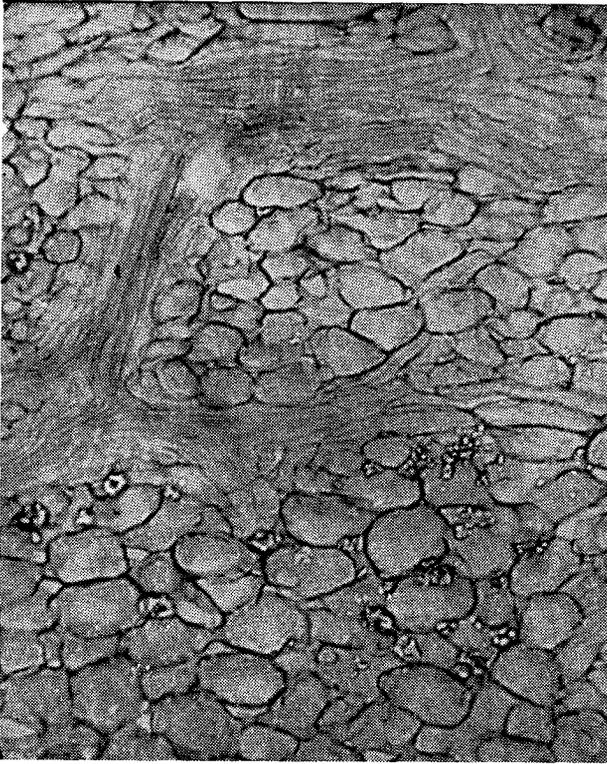
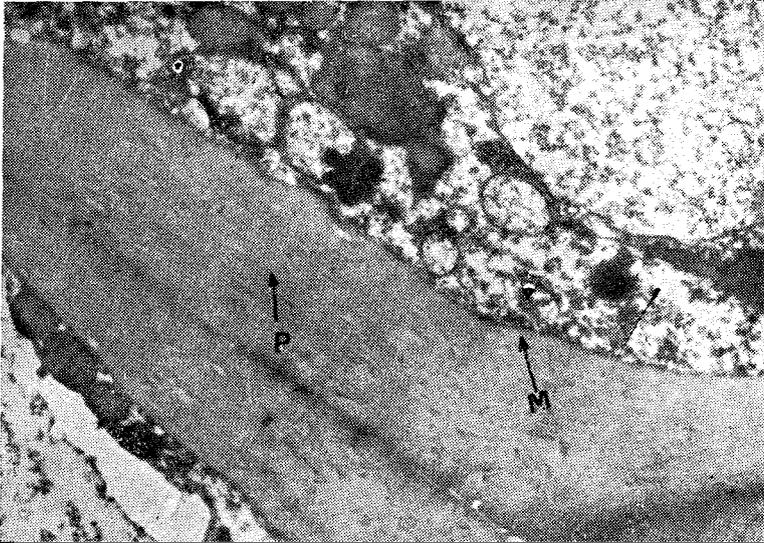


Fig. 3. Red de vasos floemáticos y xilemáticos que irrigan la corteza del fruto. 225 x

Mitocondria: Las mitocondrias son abundantes en la célula vegetal y su forma es muy diversa, apareciendo tanto redondeadas como alargadas. Además, hemos podido observar algunas en división (Figs. 7 y 8). Al observar estos organelos se ha visto que sus crestas son de forma tubular, además aparecen gránulos densos en su interior. La matriz de mayor densidad se ve entre las crestas. El diámetro mitocondrial oscila entre $0,2 - 0,5\mu$ y con un promedio de $0,41\mu$, el largo fluctúa entre $0,4 - 2,0\mu$ y $0,73\mu$ de promedio coincidiendo con lo reportado por otros autores.

Plastidios: (Fig. 8) Su número es variable y aparecen como un sistema lamelar formado por sacos aplanados y paralelos. En su interior se ob-

serva gran número de gránulos electrón densos y electrón transparentes, el diámetro fluctua de $0,5 - 0,92\mu$ y $0,88\mu$ de promedio, mientras que el largo está entre $0,9 - 2,2\mu$ con $1,78\mu$ de promedio.



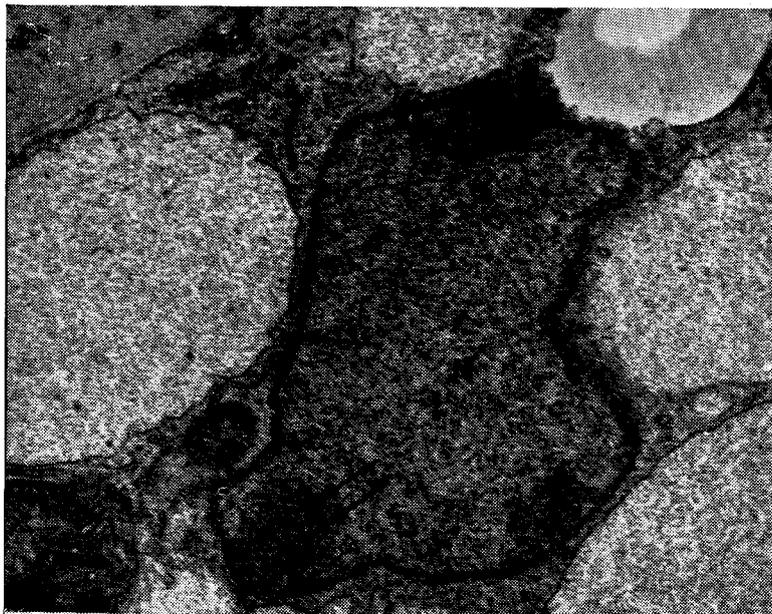


Fig. 5. Se destaca el núcleo (N). La envoltura nuclear bien definida (→). La cromatina es dispersa en la zona central y forma acúmulos hacia la periferia (⇒). El citoplasma se caracteriza por presentar gran número de vacuolas (V), separadas algunas de ellas por delgados puentes citoplasmáticos (Bridas) B. 16000 x

Vacuolas: Hemos observado vacuolas de mediano y pequeño tamaño en distintas localizaciones de la célula (Fig. 5), el citoplasma entre ellas se continúa formando las bridas citoplasmáticas, que son características de la célula vegetal, también puede aparecer una sola vacuola de gran tamaño que ocupa la mayor parte de la célula desplazando el resto citoplasmático hacia la membrana celular (Fig. 9).

Las vacuolas son menos densas que el resto del citoplasma, se define bien su membrana o tonoplasto y en su interior un contenido finamente granuloso.

Vesículas Pinocíticas: Se observa la formación de estas vesículas muy cerca de la membrana celular.

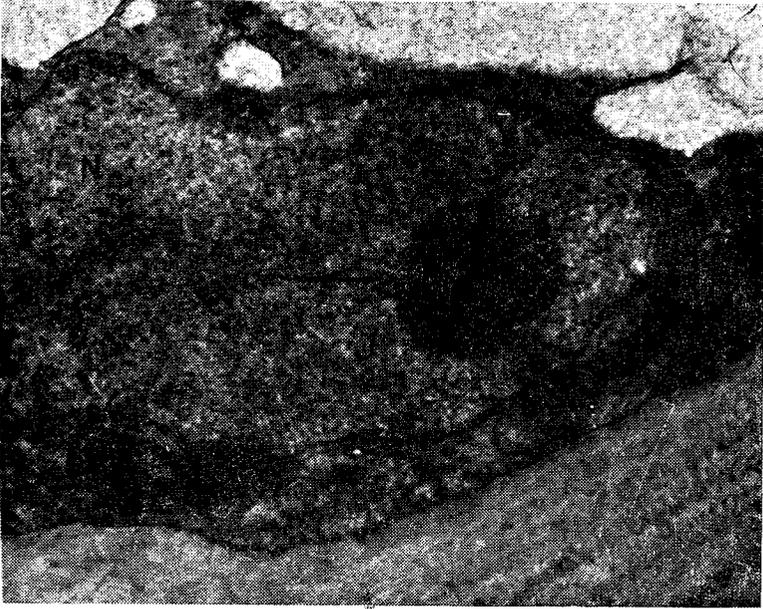


Fig. 6. Nucléolo (→). El núcleo muestra iguales características que en la Fig. 5.



Fig. 7. Retículo endoplasmático (RE) y aparato de Golgi (G), Mitocondrias (M).
54000 x.



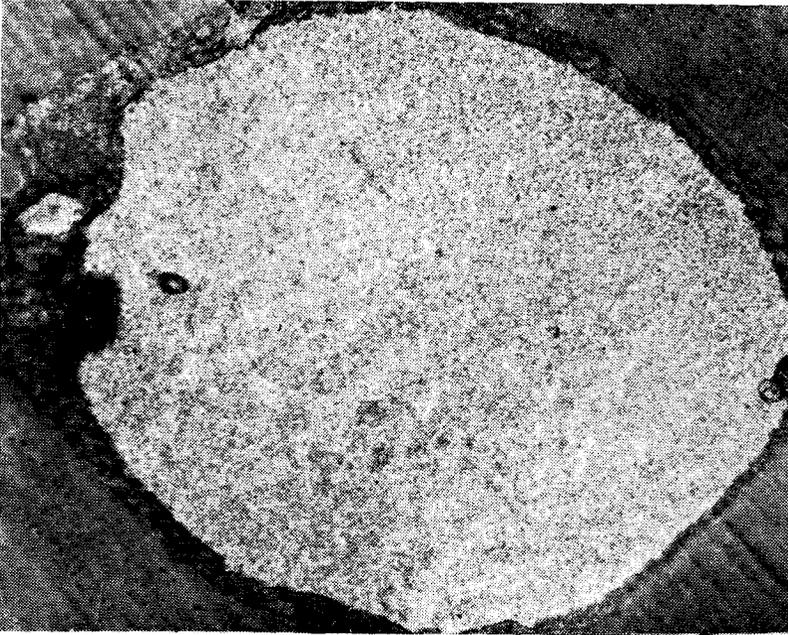


Fig. 9. Es característico de células vegetales adultas presentar una gran vacuola central y el citoplasma aparecerá marginado hacia la membrana plasmática.

El retículo endoplasmático rugoso constituido por cortos canales con ribosomas adosados y algunos llegando a la superficie celular sin hacer comunicación con la membrana citoplasmática, lo que coincide con lo reportado por Peña⁸. Se observan además, otros de largos canales.

El aparato de Golgi¹² tiene todas las características referidas por otros autores.

La vacuola es un organelo de gran importancia en la célula vegetal por las diversas funciones que desempeña. puede presentarse de distintos tamaños y formas^{9,10}. En la célula adulta puede ocupar hasta un 90% en una sola vacuola o varias pequeñas. El tonoplasto se distingue perfectamente rodeando la cavidad vacuolar.

En los plastidios no se ha observado la forma característica de las granas vistos en otras células vegetales. La aparición de gránulos electrón densos y electrón transparentes coincide con lo descrito por Jensen¹⁰.

Hemos observado la presencia en el citoplasma de la célula de gran número de ribosomas libres y la formación de vesículas pinocíticas cerca de la superficie celular.

REFERENCIAS

1. EAKS I. L. *Plant Physiology*, 35, 632, 1960.
2. EAKS I. L. AND MOSIAS E. *J. Food Sci.*, 30, 509, 1965.
3. TING S. V. AND ATTAWAY J. A. *Citrus Fruits*. Ch. 3 "The biochemistry of Fruits and Vegetables" 173-188. Ed. by Hulme, A. C. Acad. Press, N.Y., 1970.
4. PIVIDAL F., SLUTZKY B., SANTANA M. C., RODRÍGUEZ J. Y GÜECHE F. Análisis de un daño presentado por toronja de la Isla de la Juventud. Informe presentado a la Dirección Nac. de Cítricos, Cuba, 1977.
5. COHN H. J. *Biological Stains*. Seventh Edition Waverly Press. Inc. Baltimore, MD USA, 1961.
6. GLAUERT A. M., ROGERS G. E. AND GLAUERT R. H. *Nature (London)* 178, 803, 1956.
7. REYNOLDS E. S. *J. Cell. Biol.*, 17, 208, 1963.
8. GILDERMEISTER E. AND HOFFMAN F. R. *Die Atherischen Ole*, tomo 1 237-244. Akademie-Verlag, Berlin, 1956.
9. PEÑA E. "Algunos aspectos de la célula vegetal". Fac. de Ciencias, Esc. de Biología, U. H., 1976.
10. JENSEN W. A. *The plant cell*. University of California, Berkeley Wadsworth publishing company. Inc. Belmont, California, 1970.
11. LYONS J. M. AND RAISON J. K. *Plan Physiology*, 45, 386, 1970.
12. NEUTRA MARIEN AND LEBLOND C. P. *Scientific American*, 226, 100-107, 1969.