



ESTUDIO HISTOLÓGICO DEL ESTADO DE DIFERENCIACIÓN DE CULTIVOS CALLOGÉNICOS DE *Dioon merolae* (Zamiaceae, Cycadales) ESPECIE EN PELIGRO DE EXTINCIÓN.

Sandra L. Cabrera¹, Estela Sandoval², Víctor M. Chávez³, Francisco C. Sosa¹. ²Laboratorio de Apoyo a la Investigación ³Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales, Instituto de Biología, UNAM, ¹Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapala, Dpto. de Biotecnología. Av. San Rafael Atlixco #186, Col. Vicentina, 09340, México D. F. Tel/Fax 58 04 47 12 e-mail: cabrerahilerio_sl@hotmail.com

Palabras clave: cícadas, histología, desdiferenciación, *Dioon merolae*

Introducción. *Dioon merolae* (Zamiaceae, Cycadales) es una cícada endémica de Chiapas y Oaxaca (México) con gran valor ornamental, ecológico y evolutivo que es colectada en forma indiscriminada e ilegal para el mercado nacional e internacional, por lo que ha sido clasificada como especie en peligro de extinción (1). Los análisis del desarrollo de los tejidos in vitro a nivel estructural nos permiten plantear mejores estrategias para tratar de inducir eventos morfogénicos.

El objetivo del trabajo es inducir a la morfogénesis in vitro de *Dioon merolae*, y determinar histológicamente las estructuras desarrolladas.

Metodología. Los cultivos in vitro fueron iniciados a partir de embriones cigóticos de *Dioon merolae*, cultivados en medio modificado por Litz (2) y suplementado con la auxina (2,4-D) (0, 0.1, 0.5, 1, 2 mg/L) y la cinetina (Kinetina) (0, 0.5, 1, 2, 3 mg/L) e incubados en condiciones de oscuridad. A los 5 meses de cultivo fueron transferidos a medio sin reguladores para permitir la morfogénesis. Después de cada mes, se tomó una muestra por triplicado para su análisis histológico. Los explantes fueron fijados en Navashin e incluidos en paraplast, posteriormente se deshidrataron con una serie de alcoholes. Los cortes (6-8 µm) se realizan en un micrótopo de rotación. Finalmente las secciones obtenidas fueron teñidas con safranina-verde rápido y montadas con resina sintética como preparaciones permanentes para su observación al microscopio óptico.

Resultados y discusión. La callogénesis se observó a los 3 meses de siembra en un amplio rango de reguladores de crecimiento como se observa en la tabla 1.

Tabla 1. Influencia de 2,4-D/kinetina en la Organogénesis

K mg/L	2,4-D mg/L				
	0	0.1	0.5	1	2
0	---	G	---	G	G
0.5	---	---	G	---	---
1	G	G	C	G	C
2	C	G	---	G	C
3	C	G	C	---	C

C:callo; G:germinación; ---:sin respuesta

Los callos formados fueron de apariencia compacta algo humedecidos, friables, de color crema (fig. 1A), compuestos de células grandes vacuoladas, asimétricas indiferenciadas. Mediante los estudios anatómicos de los cultivos se registró el proceso de desdiferenciación y de diferenciación celular en algunas regiones del explante, como que rodean haces vasculares (fig. 1B). Basándose en estos estudios fue posible observar la formación del meristemo apical de raíz (fig. 1C) y el meristemo apical de brote (fig. 1D). Comparando con los resultados obtenidos para otras cícadas este trabajo contribuye a la determinación de los tiempos en que los tejidos inician el proceso de desdiferenciación.

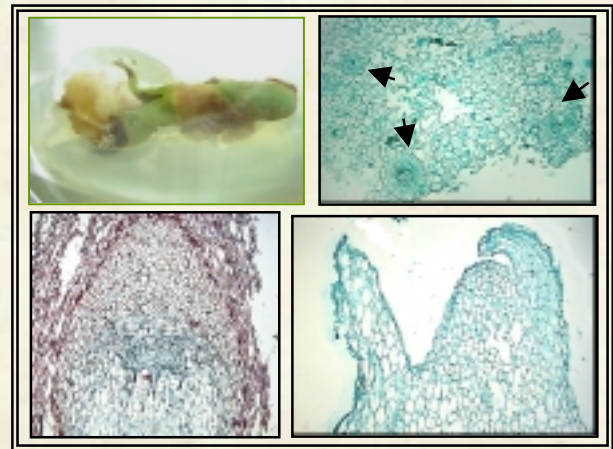


Figura 1. A) Callo de 4 semanas de cultivo; B) Callo de 5 meses en medio sin reguladores con centros de diferenciación; C) Meristemo apical de raíz, D) Meristemo apical de brote

Conclusiones. Los embriones exhiben diferentes respuestas morfogénicas que no está en función de los reguladores. La utilización de los estudios anatómicos muestra el proceso de desdiferenciación y morfogénesis en *Dioon merolae*.

Bibliografía.

- Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2002, SEMARNAT. Diario Oficial de la Federación. Marzo del 2002.
- Chávez V.M, Litz R. E and Norstog K (1992) In vitro morphogenesis of *Ceratozamia hildae* and *C. mexicana* from megagametophytes and zygotic embryos. *In Vitro Cell Dev Biol* 28: 59-63.