

Maturano Maturano Jhonny¹, Téllez Román Janeth², Castillo España Patricia¹, Acevedo Fernández Juan J², Villegas Torres Oscar G³. y *Perea Arango Irene¹.

¹Laboratorio de Botánica Estructural CEIB UAEM, ²Laboratorio de Electrofisiología y Bioevaluación de Fármacos de la Facultad de Medicina UAEM, ³Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UAEM. Av. Universidad # 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México C. P. 62209. Tel 01 (777) 3297057.

E-mail: livo_piscis@hotmail.com, *iperea@uaem.mx

INTRODUCCIÓN: *Bacopa monnieri* Linn (Brahmi) es una especie vegetal perteneciente a la familia de las Lamiaceae utilizada en la medicina tradicional.



Bacopa monnieri Linn



Bácosido A



Sistema nervioso

La embriogénesis somática (formación de embriones sin fusión gamética) y la organogénesis (formación de órganos adventicios) son dos patrones de respuesta morfológica que las células somáticas de las plantas presentan al ser cultivadas *in vitro* bajo la estimulación de reguladores de crecimiento vegetal (RCV) y otros factores físicos y nutricionales [2,3].

OBJETIVO: Estudiar las características morfológicas y origen anatómico de callos cultivados *in vitro* de *Bacopa monnieri* Linn mediante un análisis histológico.

MATERIAL Y MÉTODO: Se cultivaron callos a partir de explantes de hoja de *Bacopa monnieri* Linn en solución de steiner suplementado con diferentes relaciones porcentuales de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4$ y solución MS suplementado con TDZ y 2,4-D. Los callos se fijaron durante 72h en solución FAA (3.6% de formaldehído, 50% de etanol al 96%, 5% de ácido acético en 35% de agua destilada). Los tejidos fijados se lavaron con agua destilada y se deshidrataron mediante un procesador de tejidos automático secuencial: etanol (70, 80, 96 y 100%), xilol (100%) y xilol:etanol (1:1), por 30 min en cada cambio. Los callos fueron infiltrados e incluidos en moldes con parafina (paraplast plus Tissue Embedding Medium, McCormick Scientific®) fundida a 58 ± 1 °C. Posteriormente se obtuvieron con un micrótopo rotatorio (Leica®RM2125RT) cortes transversales de 10 μm de grosor que fueron adheridos con gretina a portaobjetos. Las muestras se tiñeron con safranina O y verde rápido, se analizaron bajo microscopía óptica las características morfológicas y el posible origen anatómico de estructuras regeneradas (embriones somáticos o brotes) que presentaran los callos.

RESULTADOS: Se evaluaron los procesos morfológicos. Se permitió corroborar la presencia de embriogénesis y organogénesis

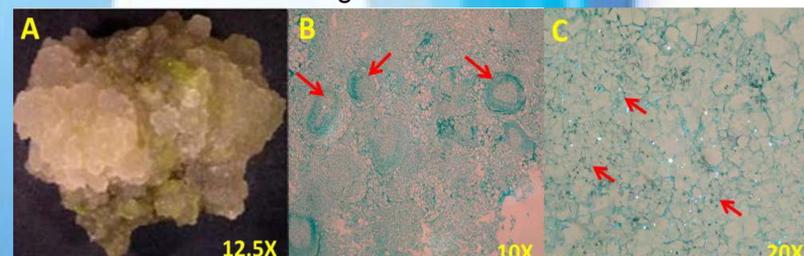
Tratamiento	2,4-D	TDZ	Tipo de respuesta
A	0	0	Organogénesis
B	0.2	0	Callo
C	0.5	0	Callo
D	0.75	0	Callo
E	0	0.1	Organogénesis
F	0.2	0.1	Callo
G	0.5	0.1	Masas embriogénicas
H	0.75	0.1	Masas embriogénicas

Respuesta morfológica de explantes de hoja sembrados en diferentes concentraciones y combinaciones de TDZ y 2,4-D

Respuesta morfológica de explantes de hoja sembrados en diferentes relaciones porcentuales de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4$

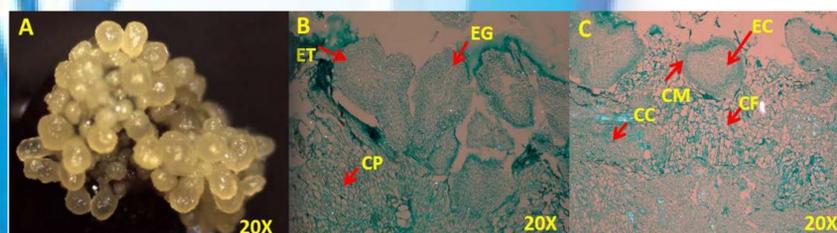
Tratamiento	Relación porcentual	Concentración iónica	Tipo de Respuesta Morfológica
1	100/0	50	embriogénesis
2	100/0	75	Organogénesis
3	100/0	100	Organogénesis
4	95/5	50	embriogénesis
5	95/5	75	Organogénesis
6	95/5	100	Organogénesis
7	90/10	50	embriogénesis
8	90/10	75	Organogénesis
9	90/10	100	Organogénesis
10	85/15	50	Organogénesis
11	85/15	75	Organogénesis
12	85/15	100	Organogénesis
MS			Organogénesis

En el caso de embriogénesis se pudo observar que el proceso ocurre en dos etapas: en la primera de ellas, las células competentes forman grupos de células embriogénicas denominadas centros embriogénicos.



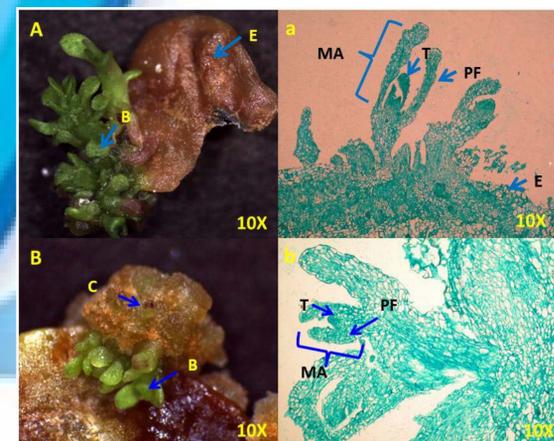
A) Callo B) Centros embriogénicos C) Gránulos de almidón

Luego se producen una serie de rápidas divisiones celulares en distintas zonas del centro embriogénico y se conforman embriones globulares, que al crecer pasaron por el estado de corazón.



A) Embriones somáticos B) Embriones en fase de torpedo (ET) y globular (EG) C) Embrión en fase de corazón (EC). Simbología: CP: Células del parénquima CC: callo compacto, CF: callo friable CM: Células meristemáticas.

En el caso de la organogénesis se obtuvieron brotes adventicios no habiendo conexión vascular directa, por tanto la iniciación de brotes adventicios puede ocurrir independientemente de la diferenciación de tejido vascular.



A) Organogénesis directa B) Organogénesis indirecta. Simbología: B) Brote, E) Explante, MP) Meristemo apical, PF) Primordio foliar, T) Túnica.