

## ESTUDIO MORFOANATÓMICO DE LA SEMILLA Y DE LAS RESERVAS PROTEICAS Y LIPÍDICAS EN TEJIDOS COTILEDONALES DE *CUPHEA GLUTINOSA* (LYTHRACEAE)

FRANCISCO JOSE CARDINALI <sup>1</sup>, MARIO ALBERTO THEVENON <sup>1,2</sup> y MÓNICA ESTHER ARIAS <sup>1</sup>

**Summary:** Morphoanatomical study of seed and lipid and protein reserves in cotyledonal tissues of *Cuphea glutinosa* (Lythraceae). The objective of the present work was to study the size and distribution of lipid and protein bodies in *Cuphea glutinosa* mature seeds collected in Sierra de los Padres, Tandilia system hills, Buenos Aires, Argentina. The protein bodies' size was variable in the different cotyledonal tissues, while the lipid bodies were largely uniform. Protein storage was observed mainly in the mesophyll tissues, although the epidermis also showed protein bodies of small size and in a low number. Lipid reserves were present in the three tissues, but around 50% was found in the cotyledonal epidermis while the rest was located in both parenchymas. This means that at the moment of moving the cotyledonal reserves, the three tissues were strongly involved providing an adequate amount of energy during germination.

**Key words:** *Cuphea glutinosa*, seed, morphoanatomy, lipid bodies, protein bodies.

**Resumen:** El objetivo del presente trabajo fue estudiar el tamaño y la distribución de cuerpos grasos y proteicos en tejidos cotiledonales de semillas maduras de *Cuphea glutinosa* Cham *et* Schltld., recolectadas en Sierra de los Padres, Sistema de Tandilia, Buenos Aires, Argentina. El tamaño de los cuerpos proteicos fue variable en los distintos tejidos cotiledonales, en tanto que los cuerpos lipídicos mantuvieron una gran uniformidad en todos ellos. *Cuphea glutinosa* almacena sus reservas proteicas fundamentalmente en el mesofilo, ya que si bien la epidermis presenta cuerpos proteicos, los mismos se encuentran en bajo número y son de muy pequeño tamaño. En cuanto a la reserva lipídica, se acumula en los tres tejidos estudiados, pero alrededor del 50% se halla en la epidermis cotiledonal y el resto está distribuída en ambos parénquimas. Esto significaría que al momento de movilizar las grandes reservas compartimentalizadas en los cotiledones, los tres tejidos se verían fuertemente comprometidos para una adecuada provisión de energía durante la germinación.

**Palabras claves:** *Cuphea glutinosa*, semilla, morfoanatomía, cuerpos grasos, cuerpos proteicos.

## INTRODUCCIÓN

En semillas maduras de dicotiledóneas el almacenamiento de las reservas proteicas y lipídicas se produce en organelas especializadas llamadas cuerpos proteicos y lipídicos u oleosomas

respectivamente (Bewley & Black, 1985; Cardinali, 2004). Se ubican en todos los tejidos cotiledonales a excepción del tejido vascular (Rest & Vaughan, 1972; Citharel & Citharel, 1985). Estas reservas generalmente determinan la importancia económica de una especie, como ocurre en cereales y oleaginosas (Webber & Neumann, 1980).

Las semillas del género *Cuphea* poseen reservas grasas y proteicas, y en consecuencia se le atribuye un gran potencial agrícola. Sus semillas producen abundante cantidad de aceites ricos en triglicéridos

1 Lab. de Botánica. Dpto. de Biología. FCEyN. UNMdP. Funes 3250. cardinal@mdp.edu.ar, fjcardinali@yahoo.com.ar  
2 Colegio Nacional Arturo Illia. UNMdP. Matheu 4051. thevenon@mdp.edu.ar

saturados de cadena media a corta, tales como los ácidos cáprico y láurico (Jaworski & Phatak, 1990). Dichos ácidos son importantes no sólo para la industria, en donde se usan para la elaboración de jabones y detergentes (Hirsinger, 1985), sino también para la nutrición, especialmente el ácido láurico aportado exclusivamente por el coco y la médula de palmera (Graham, 1989).

Los cuerpos lipídicos generalmente adoptan una forma esférica (Tzen & Huang, 1992; Tzen *et al.*, 1993; Cardinali, 2004). Están formados por una matriz de triacilglicéridos (TAG) rodeada por media unidad de membrana de fosfolípidos (FL) (Yatsu & Jacks, 1972), embebidos en proteínas, las oleosinas (Huang, 1992).

Los cuerpos proteicos son de origen vacuolar y están rodeados por una membrana típica (Lott, 1981; Galili & Herman, 1997). Internamente están formados por una matriz proteinácea que en determinadas especies pueden presentar inclusiones (Buttrose & Lott, 1978; Lott, 1981), globoides, drusas y proteína cristaloides (Spitzer & Lott, 1982a).

Los cuerpos proteicos y lipídicos hasta el presente no son considerados en estudios sistemáticos; sin embargo, las variaciones en número y características de éstos podrían ser también utilizados como caracteres taxonómicos (Lott, 1981).

Hay estudios bioquímicos realizados en *Cuphea sp.* sobre la identificación y caracterización de las reservas, pero no sobre las estructuras que las contienen, cuerpos grasos y proteicos. Específicamente, para *Cuphea glutinosa* Cham *et* Schltl. no existen estudios sobre estos tópicos, y muy pocos sobre los caracteres morfoanatómicos de su semilla. Por ello, el objetivo de este trabajo fue determinar las características morfológicas y anatómicas de semillas de *Cuphea glutinosa* y establecer la ubicación y distribución de las reservas lipídicas y proteicas en los tejidos seminales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Material vegetal*

Semillas de *C. glutinosa* fueron recolectadas en Sierra de los Padres (37° 56' 45" S; 57° 46' 45" W), Partido de Gral. Pueyrredón, Provincia de Buenos Aires, República Argentina, en los meses de marzo y abril de 2003.

La determinación sistemática se realizó según Cabrera (1965).

Se utilizaron semillas con un tamaño promedio de  $1,8 \pm 0,1$  mm de longitud,  $1,51 \pm 0,1$  mm de ancho y un peso por mil de  $0,8 \pm 0,048$  grs.

### *Procesamiento de las muestras*

Un grupo de semillas escarificadas con una lija al agua AX- 51-AA-400 fueron fijadas en FAA (Sass, 1964) y procesadas según el método rápido de inclusión en parafina (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Los cortes longitudinales y transversales de 8 µm de espesor realizados con micrótopo rotatorio tipo Minot, fueron coloreados con azul de toluidina (Sakai, 1973) y montados en bálsamo de Canadá. Sobre dichos cortes se realizaron las observaciones de cubiertas seminales y de células de tejidos cotiledonales a través de un microscopio óptico binocular Olympus CX21, y la observación de cristales con un microscopio de luz polarizada C.Zeiss Jenna, Modelo 1980.

Un segundo grupo de semillas, destinado al estudio de cuerpos lipídicos, fue hidratado durante 24 horas, removida sus cubiertas, montados en gelatina glicerina y enfriados a  $-18^{\circ}\text{C}$  con nitrógeno líquido. Los cortes longitudinales y transversales de 15 µm de espesor realizados con un criomicrotomo marca Cryo-Cuit II Micrótopo Reichert-Jung, fueron coloreados con Sudán III (Martoja & Martoja, 1970), montados en gelatina-glicerina y observados con microscopio óptico (MO).

Un tercer grupo de semillas libres de cubiertas y cortadas transversalmente fue destinado a la observación con microscopio electrónico de barrido (MEB) marca Joel JSM 6460-LU. La fijación se realizó en glutaraldehído 3% en buffer cacodilato de sodio 0,1 M, pH 7,2-7,4. Fueron deshidratadas a través de una serie creciente de alcoholes, secadas con hexametildizilazame (HMDS) y metalizadas con oro/paladio.

### *Determinación del número y tamaño de los cuerpos grasos y proteicos*

El número de cuerpos grasos (CG) y cuerpos proteicos (CP) de cada tejido cotiledonal se obtuvo a través de observaciones con MO. Los recuentos se realizaron en una unidad de volumen celular (UVC) conformada en un área de 10 µm de lado y una

profundidad de 8  $\mu\text{m}$ , equivalente al espesor del corte histológico. Los resultados se expresan en número de CG y CP por micrón cúbico. El tamaño promedio de ambas organelas se obtuvo midiendo el diámetro de todos los cuerpos interceptados por la regla graduada del ocular del microscopio óptico en cada UVC y confirmadas por las observaciones en MEB.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Cubierta de la semilla*

Las semillas de *C. glutinosa*, ovoides y comprimidas dorsiventralmente (Fig. 1 A), presentan una cubierta sumamente dura, lisa al tacto y sin protuberancias visibles. Sin embargo, el género se caracteriza por la presencia de pelos seminales (Stubbs & Slabas, 1982). Ocurre que los pelos están presentes como estructuras preexistentes localizadas en células de la cubierta seminal (Fig. 1 B). En cortes longitudinales se aprecia claramente un tegumento externo o testa, según la nomenclatura de Corner (1976), con células periféricas, algunas de las cuales poseen en su interior excrescencias filiformes helicoidales densas, procedentes de la pared (Fig. 1 B y D). Estas estructuras se externalizan cuando la semilla es hidratada, dando lugar a los pelos seminales (Fig. 1 C). Esto es coincidente con lo observado por Correns (1892) para *Cuphea viscosissima* Jacq. y por Stubbs & Slabas (1982) en *Cuphea procumbens* Cav.

Otras células periféricas presentan cristales que se visualizan con microscopía de campo claro. Estas estructuras recurrentes a lo largo del tejido epidérmico se aprecian nítidamente en microscopio de luz polarizada (Fig. 1 E). La birrefringencia y la morfología prismática rectangular son indicadores de biomineralizaciones cálcicas (Franceschi & Horner Jr., 1980). Éstas parecen jugar un papel central en algunas plantas, entre las que se incluyen la regulación en los niveles de calcio, la protección contra herbívoros y la detoxificación de metales pesados (Briones Cerecero *et al.*, 2006). *Cuphea glutinosa* es una especie que habitualmente crece en suelos ricos en calcio, que se ubican en las cumbres o pendientes serranas en contacto directo con la roca, constituyendo suelos someros de muy baja capacidad de almacenamiento de agua (Yagueddú *et al.*, 2006).

Monje & Baran (2002) sugieren que las biomineralizaciones cálcicas, específicamente de oxalatos de calcio, en los tejidos pueden estar relacionadas a aspectos fisiológicos, particularmente a la retención de agua. De manera que la presencia de biomineralizaciones cálcicas en *C. glutinosa* podría ser una estrategia para aumentar la resistencia a la frecuente desecación.

Internamente, la endotesta presenta una capa notable de células esclerenquimáticas, que va siendo sustituida por células parenquimáticas hacia el extremo más aguzado de la semilla (Fig. 1 D).

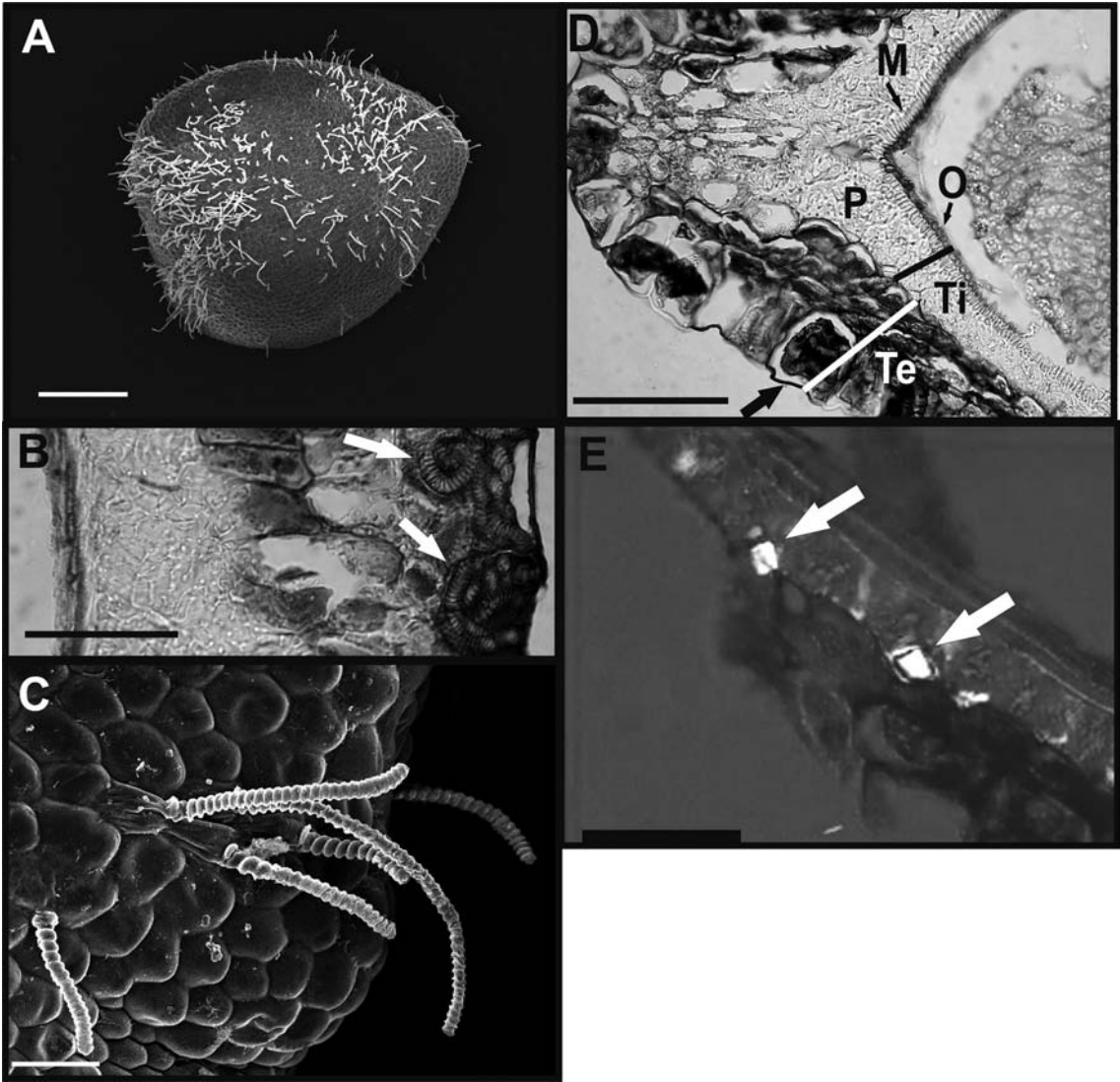
Por su parte, el tegumento interno o tegmen muestra varias capas de células parenquimáticas (exotegmen), una capa de macroesclereidas (mesotegmen) y una de osteoesclereidas (endotegmen) que rodea al embrión (Fig. 1 D). La capa de macroesclereidas radialmente alargadas, llamada capa de Malpighi, acompañadas de células en forma de hueso corresponde a una estructura típica observable en transcortes de cubierta de numerosas semillas de dicotiledóneas (Netolitzky, 1926). Estas capas de células de paredes fuertemente engrosadas que incluyen la presencia de lignina, le confieren resistencia mecánica y ejercen el control sobre la velocidad de hidratación, fundamental para una adecuada germinación (Cardinali, 2004).

### *Cotiledones*

Internamente la semilla de *C. glutinosa*, cuenta con dos cotiledones y el eje embrional. Los cotiledones, claramente distinguibles, surgen como estructuras opuestas que se asemejan a hojas verdaderas, al igual que en otras familias como las Compuestas, Cucurbitáceas, Rubiáceas y Euforbiáceas (Lindorf *et al.*, 1999).

En ellos se diferencia, en sentido adaxial-abaxial, una epidermis superior, una capa de parénquima en empalizada, varias de parénquima esponjoso y una epidermis inferior (Fig. 2 A).

Las epidermis superior e inferior, están formada por una única capa de células alargadas paralelas a la superficie, de forma rectangular y tamaño variable. El parénquima en empalizada posee una sola capa de células en forma de prisma cuboides bien compactadas, sin espacios intercelulares. El parénquima esponjoso se presenta en varias capas de células más o menos esféricas y poco compactadas. Entre las capas de este tejido se observan nítidamen-



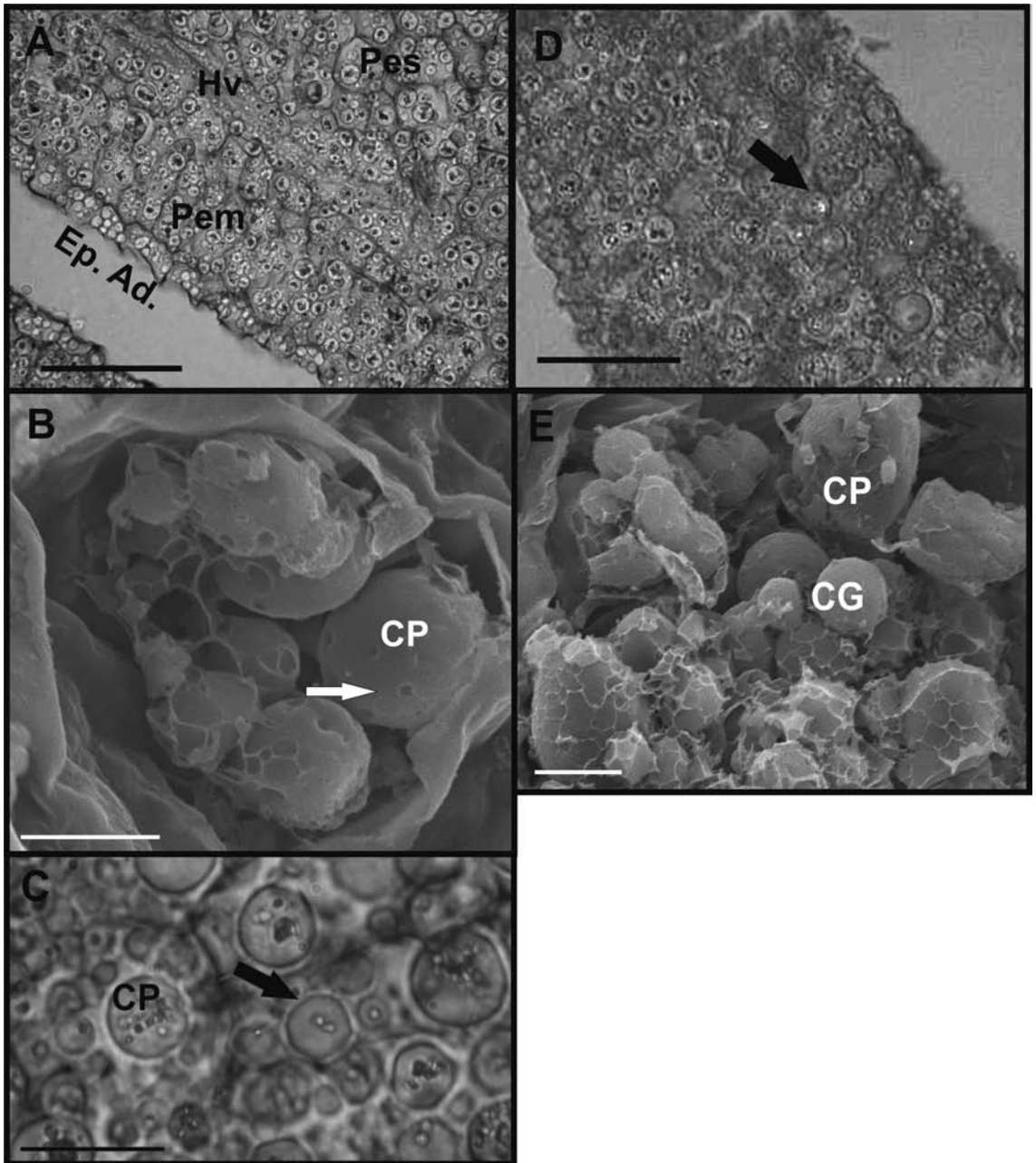
**Fig. 1. A-C:** Semilla de *Cuphea glutinosa* (MEB). **D, E:** Detalles de la cubierta seminal en corte longitudinal. **A:** Vista superficial. **B:** Pelos seminales localizados en células de la cubierta. La flecha señala una célula periférica con pelo seminal previa externalización. **C:** Pelos seminales hidratados. **D:** Observado al microscopio de campo claro. M = macrosclereidas; O = osteosclereidas; P = parénquima; Ti = tegumento interno (tegmen); Te = tegumento externo (testa). La flecha señala un pelo en el interior de una célula del tegumento externo. **E:** Observado con microscopio de luz polarizada. Las flechas indican biomineralizaciones en el Ti. Escalas. A: 500  $\mu$ m, B-E: 50  $\mu$ m.

te haces vasculares que recorren las hojas seminales en sentido acrópeto (Fig. 2 A).

El interior de las células de los distintos tejidos cotiledonales muestran nítidamente CG y CP ocupando la mayor parte del citoplasma (Fig. 2 A).

#### *Cuerpos proteicos*

Los CP son esféricos y están conformados por una matriz con inclusiones claramente visibles (Fig. 2 B). Estos resultados son coincidentes con los obtenidos



**Fig. 2. A, C, D:** Tejidos cotiledonales en cortes transversales de semilla de *Cuphea glutinosa* observados con microscopio de campo claro. **B, E:** Detalle de células del parénquima esponjoso (MEB). **A:** Pem = parénquima en empalizada; Pes = parénquima esponjoso; Hv = haz vascular; Ep Ad = epidermis adaxial. **B:** La flecha indica un hueco que registra una inclusión. CP = cuerpo proteico. **C:** Cuerpos proteicos en célula del mesofilo. La flecha señala inclusiones globoides. **D:** La flecha indica biomineralización en parénquima esponjoso. **E:** CP = cuerpo proteico; CG = cuerpo graso. Escalas. A, D: 50  $\mu$ m, B, E: 5  $\mu$ m, C: 20  $\mu$ m.

para las Umbelíferas (Spitzer & Lott, 1982c), para *Vicia faba* L. (Briarty *et al.*, 1969) y para *Cytisus scoparius* L. (Citharel & Citharel, 1985).

Los diámetros varían entre  $3,33 \pm 1,16 \mu\text{m}$  y  $7,15 \pm 1,71 \mu\text{m}$  dependiendo del tipo de tejido (Tabla 1). Esta variación en el tamaño se aproxima al de las Umbelíferas (Spitzer & Lott, 1982a) y al de las Leguminosas (Citharel & Citharel, 1985) y son más grandes que los CP encontrados en *Datura stramonium* L. (Maldonado & Lott, 1991).

*Cuphea glutinosa* presenta los CP más pequeños en la epidermis y los más grandes en el mesofilo, sin diferencias significativas entre los parénquimas que lo componen (Tabla 1). Investigaciones realizadas en *Datura stramonium* (Maldonado & Lott, 1991) y *Cucurbita máxima* Duch. (Lott *et al.*, 1971) muestran resultados semejantes.

En cuanto al número por UVC, los valores más elevados se muestran en el parénquima empalizada, que presenta diferencias altamente significativas con respecto al parénquima esponjoso y a la epidermis, entre los cuales no se observan diferencias significativas (Tabla 1).

Estudios en numerosas familias de Angiospermas han mostrado que los CP son complejas estructuras subcelulares. Algunos son de estructura simple constituida únicamente por una matriz proteinácea, mientras que otras poseen inclusiones (Lott, 1981). Los CP presentes en *C. glutinosa* mostraron dos tipos de inclusiones: globoides y cristaloides. Las más frecuentes son las globoides, que al MO aparecen de color rojizo luego de la tinción con azul de toluidina. En su mayoría son esféricas y varían en tamaño y número dentro de los CP, aún de las mismas células. Los CP menores a  $5 \mu\text{m}$ , generalmente, presentan una a tres globoides. En aquellos mayores a  $5 \mu\text{m}$  se observan numerosas globoides de tamaño variable. Este patrón se repite tanto en el parénquima esponjoso como en empalizada (Fig. 2 C).

Las globoides concentran cantidades significativas de fitina que asocia a su estructura cationes esenciales, constituyendo una fuente fundamental de reserva mineral (Maldonado & Lott, 1991; Buchanan *et al.*, 2000). Se identificaron dada la propiedad metacromática del colorante azul de toluidina que presentó coloración rojiza indicadora de presencia de mioinositol fosfato ácido (Citharel & Citharel, 1985).

Las observaciones con MEB son coincidentes

con las realizadas con MO, y muestran claramente los CP con numerosos huecos, indicadores de la presencia de inclusiones globoides perdidas durante el procesamiento de los cortes histológicos (Fig. 2 B y C). Esta situación ya ha sido reportada por Bagley *et al.* (1963), Horner & Arnott (1965) y Maldonado & Lott (1991).

Otro tipo de inclusiones que suelen observarse en los CP, son las biomineralizaciones cálcicas. En varias especies de umbelíferas se reportan drusas (Spitzer & Lott, 1982 b). Pueden aparecer solas o junto a pequeños globoides (Lott, 1981).

En *C. glutinosa* no hay antecedentes al respecto, sin embargo, se observan claramente biomineralizaciones poliédricas en algunos CP de unas pocas células del parénquima esponjoso y aparecen acompañadas por pequeños globoides. Al microscopio de luz polarizada son claramente distinguibles dada su birrefringencia, a diferencia de las globoides que permanecen opacas (Fig. 2 D), coincidentemente con lo observado por Spitzer & Lott (1982a) y Lanzilotta *et al.* (2005).

#### *Cuerpos grasos*

Los CG se disponen compactadamente rodeando a los CP y en gran parte del citosol (Fig. 2 E). Son de forma esférica con diámetros promedio que oscilan entre  $3,03 \pm 0,87 \mu\text{m}$  y  $3,34 \pm 0,99 \mu\text{m}$ , según el tejido considerado (Tabla 2). Estos tamaños son notablemente más grandes que en otras especies estudiadas, como *Brassica napus* L. ( $0,5 \mu\text{m}$ ), *Brassica juncea* L. ( $0,73 \mu\text{m}$ ), *Gossypium hirsutum* L. ( $0,97 \mu\text{m}$ ), *Linum usitatissimum* L. ( $1,34 \mu\text{m}$ ), *Zea mays* L. ( $1,45 \mu\text{m}$ ), *Arachis hypogaea* L. ( $1,95 \mu\text{m}$ ) y *Sesamum indicum* L. ( $2 \mu\text{m}$ ) (Tzen *et al.*, 1993).

Los CG pueden ser de distinto tamaño en las diferentes células o tejidos. Así, en un embrión de maíz los CG del escutelo son más grandes que los del eje embrionario (Huang *et al.*, 1993). Esto no se observa en *C. glutinosa*, ya que no hay diferencias significativas en el tamaño de dichos cuerpos entre los diferentes tejidos cotiledonales. Asimismo, dentro de las células de cada tejido, las pequeñas variaciones de tamaño son estadísticamente no significativas. Lo mismo se aprecia en otras especies como *S. indicum* y *A. hypogaea* (Tzen *et al.*, 1993).

Existe una alta correlación entre el tamaño de la organela y el porcentaje de sus constituyentes

**Tabla 1.** Tamaño y número de cuerpos proteicos en los diferentes tejidos cotiledonales.

Tejidos	Diámetro ( $\mu\text{m}$ )	Nº CP / UVC
<b>Epidermis</b>	3,33 $\pm$ 1,16	1,92 $\pm$ 0,82
<b>P. empalizada</b>	6,41 $\pm$ 1,32	3,87 $\pm$ 1,47
<b>P. esponjoso</b>	7,15 $\pm$ 1,71	2,48 $\pm$ 1,04

**Tabla 2.** Tamaño y número de cuerpos grasos en los diferentes tejidos cotiledonales.

Tejidos	Diámetro ( $\mu\text{m}$ )	Nº CP / UVC
<b>Epidermis</b>	3,14 $\pm$ 1,30	11,27 $\pm$ 2,93
<b>P. empalizada</b>	3,03 $\pm$ 0,87	6,38 $\pm$ 2,23
<b>P. esponjoso</b>	3,34 $\pm$ 0,99	4,49 $\pm$ 1,66

oleosina y triacilglicéridos (Tzen, 1993). Más precisamente, cuanto mayor es el tamaño del CG mayor es la relación triacilglicérido / oleosina. Especies que contienen altas cantidades de oleosina, como *B. napus*, tienen pequeños CG, a la inversa *S. indicum*, que presentan un bajo contenido de la proteína poseen CG de un considerable tamaño (Tzen *et al.*, 1993). Similares resultados fueron descriptos para frutos de diferentes líneas híbridas de maíz (Hsieh & Huang, 2004) y para semillas de distintos genotipos de *Arabidopsis thaliana* L. (Siloto *et al.*, 2006). En función del tamaño de los CG observados en este trabajo podemos inferir que *C. glutinosa* cuenta con una alta proporción de triacilglicéridos, principalmente ácido láurico y cáprico, como lo determinaron Graham *et al.* (1981).

Por otra parte, Crane *et al.* (2003) precisan que cuanto más grandes son los CG, menos eficiente es la movilización de los lípidos y mayor la tendencia a coalescer. Esto no se observa en *C. glutinosa*, cuyos CG no coalescen, como se ha apreciado en este trabajo tanto en preparados frescos como en cortes que han sufrido distintos tipos de procesamientos (Fig. 2 E). Igual comportamiento se vio en *A. thaliana*, cuyos CG tienen diámetros de 2,8  $\mu\text{m}$  (Jolivet *et al.*, 2004), levemente inferiores a

los que presenta *C. glutinosa*.

Estudios realizados en hojas adultas, comúnmente reportan la presencia de CG en sus parénquimas, pero no en células epidérmicas (Lersten *et al.*, 2006). El presente estudio se realizó sobre hojas embrionales de semillas, las cuales los presentan en los tejidos parenquimáticos y en la epidermis, con notables diferencias en el número por UVC. Así, la epidermis presenta la mayor cantidad de CG por UVC, con notables diferencias con el mesofilo, que muestra un parénquima en empalizada con un número algo superior al esponjoso (Tabla 2).

En resumen, lo observado demuestra que *C. glutinosa* almacena sus reservas proteicas fundamentalmente en el mesofilo, ya que si bien la epidermis presenta CP, los mismos se encuentran en bajo número y son de muy pequeño tamaño. En cuanto a la reserva lipídica, se acumula en los tres tejidos estudiados, pero alrededor del 50% se halla en la epidermis cotiledonal y el resto está distribuida en ambos parénquimas. Esto significaría que al momento de movilizar las grandes reservas compartimentalizadas en cotiledones los tres tejidos se verían fuertemente comprometidos para una adecuada provisión de energía durante la germinación.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Lic. Mónica Opedizano a cargo del Laboratorio de microscopía electrónica de la FCEyN - UNMdP, a la Lic. Ana Cecilia Martínez Tosto por la colaboración en la revisión del manuscrito, y al laboratorio de Histología, por la atención y asesoramiento durante el procesamiento de las muestras.

El presente trabajo se enmarca en el proyecto EXA 315/08 "Estudio integral de especies medicinales autóctonas: *Cuphea glutinosa* Cham et Schltdl. nativa de las sierras bonaerenses", financiado por la UNMdP.

## BIBLIOGRAFÍA

- BAGLEY, B. W., H. C. CHERRY, M. L. ROLLINS & A. M. ALTSCHUL. 1963. A study of proteins body during germination of peanut (*Arachis hypogea*) seed. *Amer. J. Bot.* 50: 523-531.
- BEWLEY, J. D. & M. BLACK. 1985. *Seeds. Physiology of development and germination*. Plenum Press, New York.
- BRIARTY, L. G., D. A. COULT & D. BOULTER. 1969. Protein bodies of developing seeds of *Vicia faba*. *J. Exp. Bot.* 20: 358-372.
- BRIONES CERECERO, E. P., A. P. BARBA DE LA ROSA, D. RAMÍREZ GONZÁLEZ, G. RAMÍREZ MANZANARES, H. TERRONES, E. MUÑOZ SANDOVAL & M. TERRONES. 2006. *Biomíneralización de micro y nanoestructuras de oxalato de calcio en amaranto*. Actas XXVI Congreso de Bioquímica, Sociedad Mexicana de Bioquímica, Guanajuato.
- BUCHANAN, B. B., W. Y. GRUISSEM & R. L. JONES. 2000. *Biochemistry and molecular biology of plants*. American Society of Plant Physiologist, Maryland.
- BUTTROSE, M. S. & J. N. A. LOTT. 1978. Inclusions in seed proteinbodies in members of the Compositae and Anacardiaceae: comparison with other dicotyledonous families. *Canad. J. Bot.* 56: 2062-2071.
- CABRERA, A. 1965. *Flora de la Provincia de Buenos Aires. Parte IV. Oxalidáceas a Umbelíferas*. Colección Científica del INTA, Buenos Aires.
- CARDINALI, F. J. 2004. *Fundamentos Fisiológicos de la Germinación. Aspectos Morfológicos de las Semillas*. Departamento de Servicios Gráficos, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata.
- CITHAREL, L. & J. CITHAREL. 1985. Protein bodies from the cotyledons of *Cytisus scoparius* L. Ultrastructure, isolation and subunit composition of albumin, legumin and vicilin. *Planta* 166: 36-45.
- CORNER, E. J. H. 1976. *The seeds of cotyledons*. 2 Vols. Cambridge University Press, Londres.
- CORRENS, C. 1892. Über die Epidermis der Samen von *Cuphea viscosissima*. *Ber. d. Deutsch. Bot. Gesellsch* 10: 143-152.
- CRANE, J., A. L. MILLER, J. N. VAN ROEKEL & C. WALTERS. 2003. Triacylglycerols determine the unusual storage physiology of *Cuphea* seed. *Planta* 217: 699-708.
- D'AMBROGIO DE ARGÜESO, A. 1986. *Manual de técnicas de Histología Vegetal*. Ed. Hemisferio Sur S.A., Buenos Aires.
- FRANCESCHI, V. R. & H. T. HORNER Jr. 1980. Calcium oxalate crystals in plants. *Bot. Rev.* 46: 361-427.
- GALILI, G. & E. M. HERMAN. 1997. Protein bodies: storage vacuoles in seeds. *Adv. Bot. Res.* 25:113-140.
- GRAHAM, S. A. 1989. *Cuphea*: a new plant source of medium-chain fatty acids. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 28: 139-73.
- GRAHAM, S., A. F. HIRSINGER & G. ROBELEN. 1981. Fatty acids of *Cuphea* (Lythraceae), seed lipids and their systematic significance. *Amer. J. Bot.* 68: 908-917.
- HIRSINGER, F. 1985. Agronomic potential and seed composition of *Cuphea*, a annual crop for lauric and capric seed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 62: 76-80.
- HORNER, H. T. & H. J. ARNOTT. 1965. A histochemical and ultrastructural study of *Yuca* seed proteins. *Amer. J. Bot.* 52: 1027-1038.
- HSIEH, K. & H. C. HUANG. 2004. Endoplasmic reticulum, oleosins and oil in seeds and tapetum cells. *Plant Physiol.* 136: 3427-3434.
- HUANG, A. H. C. 1992. Oil bodies and oleosins in seeds. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43: 177-200.
- HUANG, A. H. C., J. T. C. TZEN, F. Y. LEE, J. T. L. BIH & C. TING RATNAYAKE. 1993. Seed oil bodies in maize and other species. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 34: 289 - 297.
- JAWORSKI, C. A. & S. C. PHATAK. 1990. *Cuphea glutinosa* selection for flowering ornamental ground cover in Southeast United States. In: JANICK, J. & J. E. SIMON. (eds.), *Advance in New Crops*, pp. 467-469. Timber Press, Portland.
- JOLIVET, J., E. ROUX, S. D' ANDREA, M. DAVANTURE, L. NEGRINI, M. ZIVY & T. CHARLOT. 2004. Protein composition of oil bodies in *Arabidopsis thaliana* ecotype WS. *Plant Physiol. Biochem.* 42: 501-509.
- LANZILLOTTA, M. I., E. MEISSL, C. SUMAY & L. A. OLIVARES. 2005. *Microscopio de polarización: su utilización en la determinación de biominerales*. Actas 4º Seminario regional de ciencia y técnica. Laclatyer, San Juan.
- LERSTEN, N. R., R. A. CZLAPINSKI, J. D. CURTIS, R. FRECKMANN & H. T. HORNER. 2006. Oil bodies in leaf mesophyll cells of angiosperms: overview and a selected survey. *Amer. J. Bot.* 93: 1731-1739.
- LINDORF, H., L. DE PERSICA & P. RODRIGUEZ. 1999. *Botánica. Clasificación, estructura y reproducción*. De la biblioteca, Venezuela.
- LOTT, J. N. A., P. L. LARSEN & J. J. DARLEY. 1971. Protein bodies from the cotyledons of *Cucurbita maxima*. *Canad. J. Bot.* 49: 1777-1782.



## F.J. Cardinali *et al.* - Estudio morfoanatómico de semilla de *Cuphea glutinosa*

- LOTT, J. N. A. 1981. Protein bodies in seeds. *Nordic J. Bot.* 1: 421-432.
- MARTOJA, R. & M. MARTOJA. 1970. *Técnicas de histología animal*. Toray-Masson. S.A., Barcelona.
- MALDONADO, S. & J. N. A. LOTT. 1991. Protein bodies in *Datura stramonium* seeds: structure and mineral nutrient composition. *Canad. J. Bot.* 69: 2545-2554.
- MONJE, P. V. & E. J. BARAN. 2002. Characterization of calcium oxalates generated as biominerals in Cacti. *Plant Physiol.* 128: 707-713.
- NETOLITZKY, F. 1926. *Anatomie der angiospermen-Samen*. Gebrüder Borntraeger, Berlin.
- REST, J. A. & J. G. VAUGHAN. 1972. The development of protein and oil bodies in the seed of *Sinapis alba* L. *Planta* 105: 245-262.
- SAKAI, W. 1973. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. *Stain Technol.* 48: 247-249.
- SASS, J. 1964. *Botanical Microtechnique*. Third Edition. The Iowa State University Press, Ames.
- SILOTO, R. M. P., K. FINDLAY, A. LOPÉZ-VILLALOBOS, E. C. YEUNG, C. L. NYKIFORUK & M. M. MOLONEY. 2006. The accumulation of oleosins determines the size of seed oil bodies in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 18: 1961-1974.
- SPITZER, E. & J. N. A. LOTT. 1982 a. Protein bodies in umbelliferous seeds. I. Structure. *Canad. J. Bot.* 60: 1381-1391.
- SPITZER, E. & J. N. A. LOTT. 1982 b. Protein bodies in umbelliferous seeds. II. Elemental composition. *Canad. J. Bot.* 60: 1392-1398.
- SPITZER, E. & J. N. A. LOTT. 1982 c. Protein bodies in umbelliferous seeds. III. Characterization of calcium-rich crystals. *Canad. J. Bot.* 60: 1399-1403.
- STUBBS, J. M. & A. R. SLABAS. 1982. Ultrastructural and biochemical characterization of the epidermal hair of the seeds of *Cuphea procumbens*. *Planta.* 155: 392-399.
- TZEN, J. T. & A. H. HUANG. 1992. Surface Structure and Properties of Plant Sees oil Bodies. *J. Cell. Biol.* 117: 327-335.
- TZEN, J. T. C., Y. C. CAO, P. LAURENT, C. RATNAYAKE & H. C. HUANG. 1993. Lipids, Proteins and Structure of seed oil bodies from diverse Species. *Plant Physiol.* 101: 267-276.
- WEBBER, E. & D. NEUMANN. 1980. Protein bodies, storage organelles in plants seeds. *Biochem. Physiol. Pflanzen.* 175: 279-306.
- YAGUEDDÚ, C., V. M. COMPARATORE, F. J. CARDINALI, A. C. MARTÍNEZ TOSTO & S. V. BEVACQUA. 2006. *Cuphea glutinosa* (Lythraceae) en Sierras del Sistema de Tandilia: Morfología y Ambiente. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 41: 285-292.
- YATSU, L. Y. & T. J. JACKS. 1972. Spherosome Membranes. Half umit Membranes. *Plant Physiol.* 49: 937-943.

Recibido el 9 de septiembre de 2009, aceptado el 16 de abril de 2010.

