ISSN 0373-580 X
Bol. Soc. Argent. Bot. 47 (3-4): 341-350. 2012

Estudio anatómico y distribución de las reservas proteicas y lipídicas en semillas de diferentes tamaños de *Cuphea glutinosa* (Lythraceae)

MARÍA ELENA DI SANTO[1], FRANCISCO JOSÉ CARDINALI[1] y MARIO ALBERTO THEVENON[1,2]

Summary: Anatomical study and distribution of proteic and lipidic reserves in different seeds' sizes of *Cuphea glutinosa* (Lythraceae). *Cuphea glutinosa* Cham *et* Schltdl., autochthonous species from the Sierras Pampeanas of Argentina, it produces a high number of seeds with abundant reserves in protein (PB) and oil bodies (OB) of its cotyledonal tissues. The objective of the present work was to determine anatomical details of seeds, characteristics of the covers, cellular volumes and number and size of PB and OB present in palisade and spongy parenchyma, and epidermal cotiledons of two sizes' seeds. The weight of 1,000 big and small seeds was 1,011 ± 0.003586 g and 0,557 ± 0.002698 g respectively. The study was made on SEM photographs using the ImageJ 1.40 software. The results were statistically analyzed. *Cuphea glutinosa* presents a remarkable seed cover with cubical cells around the embryo. Cotyledons shows an anatomy similar to that of the adult leaf, with considerable differences in cellular volumes among tissues of both kind of seeds. The seeds' size was irrespective of the PB and OB sizes. Although, the distribution was very strongly influenced, because the big seeds accumulate their reserves mainly in PB and the small seeds in OB, with little variation in their energy contents, in spite of the great variation in seeds' size.

Key words: *Cuphea glutinosa*, seed, oil bodies, protein bodies, cotyledons.

Resumen: *Cuphea glutinosa* Cham *et* Schltdl., especie autóctona de las Sierras Pampeanas de la República Argentina, produce un alto número de semillas con abundante cantidad de reservas que almacena en cuerpos proteicos (CP) y lipídicos (CL) en sus cotiledones. El objetivo del presente trabajo fue determinar los detalles anatómicos de las semillas, las características de las cubiertas, los volúmenes celulares y el número y tamaño de los CP y CL presentes en el parénquima en empalizada, esponjoso y epidermis de cotiledones de dos tamaños de semilla. Se trabajó con semillas grandes y chicas con un peso de 1,011 ± 0,0035 g y 0,557 ± 0,0026 g cada 1.000 semillas, respectivamente. El estudio se realizó sobre fotografías del MEB y con el programa ImageJ 1.40 y los resultados fueron analizados estadísticamente. *Cuphea glutinosa* presenta una notable cubierta seminal de células cúbicas que rodea al embrión. Los cotiledones muestran una anatomía semejante a la de una hoja adulta con importantes variaciones de los volúmenes celulares entre tejidos de ambos tipos de semillas. El tamaño de la semilla no tuvo influencia en el tamaño de los CP ni CL en los diferentes tejidos cotiledonales. Sin embargo, la distribución se vio fuertemente influenciada, ya que las semillas grandes acumulan sus reservas fundamentalmente en CP, en cambio las semillas chicas las acumulan en CL manteniendo con pocas variaciones el contenido energético, no obstante las grandes variaciones en el tamaño de la semilla.

Palabras clave: *Cuphea glutinosa*, semilla, cuerpos grasos, cuerpos proteicos, cotiledones.

Introducción

Cuphea glutinosa, al igual que todas las Lythraceae, presenta un alto número de semillas por planta (Graham, 1988), entre 212 y 609 en una estación de crecimiento (Cardinali *et al*., 2009), con abundantes reservas de proteínas y lípidos.

Dichas reservas se almacenan en cuerpos proteicos (CP) y lipídicos (CL) presentes en los diferentes tejidos cotiledonales, tanto en los parénquimas en empalizada como esponjoso y aún en la epidermis (Arias, 2007; Cardinali *et al*., 2010).

Los CP se caracterizan por presentar una

[1] Lab. de Botánica. Dpto. de Biología. FCEyN. UNMdP. Funes 3250 (7600) Mar del Plata. Argentina. mariedisanto@gmail.com, cardinal@mdp.edu.ar
[2] CNAI. UNMdP. Matheu 4051. thevenon@mdp.edu.ar

matriz proteinácea con notables inclusiones, globoides cristalinos con presencia de fitina y biomineralizaciones cálcicas (Lott *et al*., 1971; Lott, 1981; Cardinali *et al.,* 2010). Los CL almacenan altos niveles de ácidos grasos de cadena media (C_8 - C_{14}) que alcanzan el 34% del peso total de la semilla (Graham *et al*., 1981; Hirsinger, 1985) y representan las principales reservas seminales necesarias para el desarrollo del embrión.

Estos ácidos grasos le confieren a la especie un gran potencial agrícola dados sus múltiples usos, en la agroindustria para la elaboración de jabones y detergentes (Thompson, 1984; Hirsinger & Knowles, 1984 y Hirsinger, 1985) y en la nutrición por su alto contenido en ácido láurico, actualmente suministrado casi exclusivamente por el coco y la médula de palmera (Graham, 1989; Knapp, 1993).

Estudios recientes sobre *C. glutinosa*, (Arias, 2007; Cardinali *et al*., 2010) mostraron variaciones en el número y tamaño de los CP y en el número de los CL entre los distintos tejidos cotiledonales. Ambos aspectos son de gran importancia, ya que el tamaño de las organelas influye fuertemente en el porcentaje de sus constituyentes (Tzen *et al*., 1993) y la ubicación en los tejidos cotiledonales influye en el número y tamaño de los CP y en el número de los CL (Arias, 2007, Cardinali, *et al*., 2010). Por otra parte, las plantas desarrollan diferentes estrategias frente a las diversas condiciones ambientales, tales como variar el número y el tamaño de los frutos, lo que altera la cantidad y la calidad de las reservas y en consecuencia su importancia económica. En *C. glutinosa* se desconoce la distribución y caracterización de dichas organelas en semillas de diferente tamaño. Por ello, el objetivo de este trabajo es profundizar los estudios anatómicos y determinar las dimensiones y la distribución de los CP y CL, en tejidos cotiledonales de semillas de tamaños diferentes.

Materiales y Métodos

Obtención del material de estudio

Plantas de *C. glutinosa* crecidas en Sierra de los Padres (lat. 37º 56’ 45” O, long. 57º 46’ 45” S), Sistema de Tandilia, Buenos Aires, Argentina, fueron determinadas mediante claves taxonómicas según Cabrera & Zardini (1978). Semillas maduras y enteras fueron recolectadas durante los meses de Enero, Febrero y Marzo de 2008 y clasificadas según dos tamaños extremos, que constituyen los tratamientos, descartando las semillas medianas o intermedias (Fig. 1).

Se obtuvieron 10 grupos de 50 semillas para cada tratamiento, las cuales fueron pesadas en balanza de precisión Scientech 210D, sus pesos promediados y analizados estadísticamente. Los valores se expresaron como peso de 1.000 semillas para cada tratamiento: grandes (1,011 ± 0,0027 g) y chicas (0,5576 ± 0,0036 g) (Tabla 1).

Procesamiento de las muestras

Las semillas fueron procesadas para ser observadas con microscopio electrónico de barrido (MEB). A tal efecto, submuestras de semillas grandes y chicas fueron cortadas con bisturí en sentido transversal y longitudinal radial, bajo lupa estereoscópica. Las semillas enteras y las porciones resultantes de los cortes fueron colocadas en saliers rotulados para su procesamiento. La fijación se realizó en glutaraldehido al 3% en buffer cacodilato 0,1 M, durante 24 horas. A continuación, las muestras fueron deshidratadas a través de una serie creciente de alcoholes y secadas en Hexametildizilasame (HMDS). Se montaron con cinta doble faz en tacos especiales para el



Fig. 1. Vista general de los dos tamaños de semilla seleccionados. **A**: Semillas grandes = (peso de 1000 = 1,011 ± 0,0027 g). **B**: Semillas chicas = (peso de 1000 = 0,5576 ± 0,0036 g).

Tabla1. Peso en gramos de 1000 semillas de los tratamientos considerados.

Tamaño semillas	Peso (g)
Grandes	1,011 ± 0,0027
Chicas	0,5576 ± 0,0036

metalizado con oro-paladio. Las observaciones y fotografías digitales se realizaron a través de un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM 6460-LU del Laboratorio de Microscopía Electrónica, de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Mar del Plata.

Observaciones realizadas y metodología aplicada

Sobre un grupo de 30 semillas representativas de cada tratamiento, se midieron bajo MEB 55X la longitud y el ancho de cada una. Los resultados fueron promediados y analizados estadísticamente. Asimismo se apreciaron los detalles de la morfología seminal externa. Las dimensiones de las semillas de ambos grupos se presentan en la Tabla 2.

Sobre las imágenes del MEB y utilizando el programa ImageJ 1.40 sobre los cortes longitudinales y transversales de cada tratamiento, se determinaron las dimensiones de las células, del tejido epidérmico y de los parénquimas en empalizada y esponjoso.

Volumen de los tipos celulares

Se consideró para las células epidérmicas la forma de prisma cuboide, en consecuencia el volumen (V) fue calculado como:

$$V_{Cel.\ Ep.} = \text{Ancho x Largo x Espesor}$$

Las células del parénquima en empalizada fueron asimiladas a la forma de un paralelepípedo de base cuadrangular de lados (L) iguales, de modo que el volumen fue calculado como:

$$V_{P.\ Emp.} = \text{Altura x } L^2$$

Las células del parénquima esponjoso fueron consideradas aproximadamente esféricas, con lo cual el volumen fue calculado como:

$$V_{P.\ Esp.} = 4/3\ \pi\ (d/2)^3$$

Dado los volúmenes aproximadamente constantes y a efectos de minimizar errores, los diámetros (d) considerados fueron los promedios entre el diámetro mayor y menor de cada célula considerada.

Tamaño de los CP y CL

Los tamaños de los cuerpos proteicos (CP) y lipídicos (CL) fueron determinados sobe la base de sus diámetros, utilizando el programa ImageJ 1.40.

Número de CP y CL por unidad de área

El número de CP y CL fue determinado por unidad de área en la epidermis y en cada uno de los parénquimas. El cálculo se efectuó sobre la base de una unidad de muestreo, de una superficie aproximada al área promedio de una célula del parénquima esponjoso, equivalente a 500 µm^2 (Fig. 2). Para estas mediciones se utilizó el programa Open Office Draw. Los resultados se expresaron en N°/mm^2 y fueron analizados estadísticamente mediante el test "t" de Student.

Tabla 2. Promedio de las dimensiones de las semillas grandes y chicas.

Dimensiones promedio semillas (µm)	Grandes	Chicas
Longitud	1742,0 ± 106,25	1409,2 ± 111,2
Ancho	1629,5 ± 111,58	1263,6 ± 268,22
Espesor	544,4 ± 115,83	406,55 ± 78,78

Resultados y Discusion

Aspectos morfológicos

Las semillas de *C. glutinosa* presentan una forma ovoide y comprimida dorsiventralmente y de consistencia dura, coincidentemente con Barboza *et*

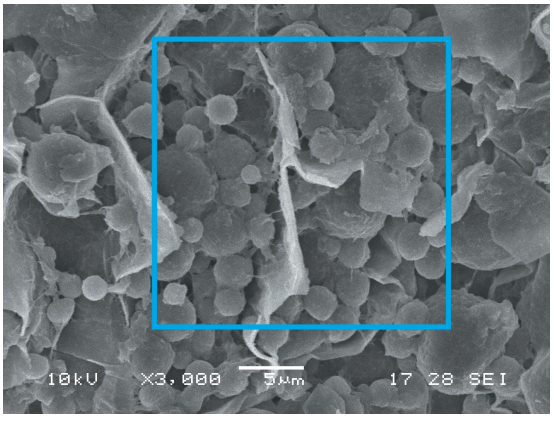


Fig. 2. Unidad de área de medición de 500 µm^2.

al. (2001). Su cara anterior es levemente convexa y en su cara posterior posee una protuberancia o domo que la recorre en toda la longitud generando un plano de simetría bilateral. No se observaron diferencias en la forma, ni en las características de la superficie en los grupos de semillas estudiados, no obstante la enorme diferencia en peso que presentan ambos tratamientos.

Estas características morfológicas la diferencian de otras especies del género, como *Cuphea micropetala* H. B. K. cuyas semillas son muy pequeñas, blanquecinas y de forma ovoide, (Koehne, 1903) o como *Cuphea procumbens* Ort. que posee semillas notablemente más grandes (Stubbs & Slabas, 1982).

La superficie seminal en ambos tamaños de semilla se presenta levemente granulada con un brillo satinado suave y de un color verde a marrón verdoso, que al perder humedad se torna marrón rojizo.

Aspectos anatómicos

En los cortes longitudinales de ambos grupos de semillas se observa la cubierta seminal y dos prominentes cotiledones, insertos en la zona media de un eje embrionario corto y recto, con su porción radical orientada hacia el extremo acorazonado de la semilla (Fig. 3). En ellos se aprecia la epidermis y el mesofilo compuesto de dos tipos de tejidos claramente distinguibles: el parénquima en empalizada y el parénquima esponjoso (Fig 4).

Cubierta Seminal

Los cortes longitudinales muestran una notable cubierta seminal o tegumento que envuelve al embrión (Fig. 3). En él se evidencia un tegumento externo o testa formado por una capa periférica de células cúbicas, en su mayoría vacías de contenido, ocasionado por el procesamiento del material. Por debajo se visualiza el tegumento interno o tegmen, que muestra un exotegmen, formado por células parenquimáticas y un endotegmen de células esclerenquimáticas (Fig. 5). Estas observaciones no difieren entre los tamaños de semilla considerados y son coincidentes con lo reportado por Cardinali *et al.* (2010).

Las semillas maduras no presentan pelos visibles en superficie. Sin embargo, en algunas células de la testa se observan excrecencias filiformes enrolladas en forma de hélice (Fig 5), que al hidratarse emergen y adoptan la estructura de un pelo, tal como lo descripto por Correns (1892) para *C. viscosissima* Jacq. y por Stubbs y Slabas (1982) en *C. procumbens* Cav.

Tejidos cotiledonales

Los cotiledones de ambas categorías de semillas se destacan como gruesas láminas enfrentadas y

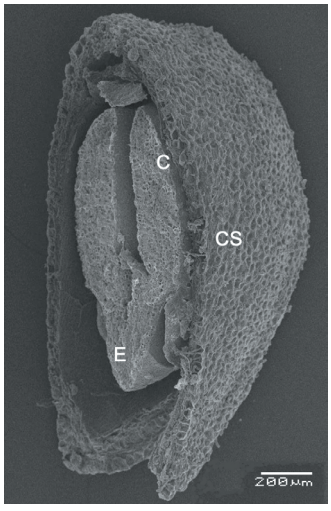


Fig. 3. Vista general en corte longitudinal de semilla. Se observa: cotiledones (C), eje embrionario, (E) y cubierta seminal (CS).

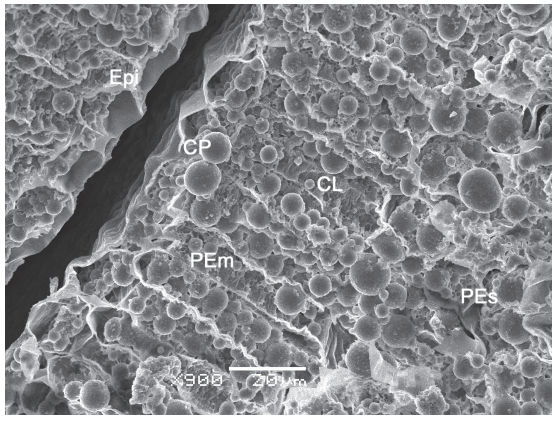


Fig. 4. Vista de células epidérmicas en cara adaxial de ambos cotiledones, parénquimas en empalizada y esponjoso. (CP = Cuerpos Proteicos, CL = Cuerpos Lipídicos, Epi = Epidermis, PEm = Parénquima en empalizada, PEs = Parénquima esponjoso).

visiblemente separadas. Coincidentemente con una estructura típica, similar a la de una hoja de dicotiledónea adulta, con una epidermis adaxial y abaxial, y un mesofilo donde se diferencian una capa de parénquima en empalizada, y varias de parénquima esponjoso (Fig. 6), tal como lo descrito por Barboza *et al*., (2001) y Yagueddú *et al*. (2001).

Epidermis

Los cotiledones de ambos tamaños de semilla están protegidos por una epidermis unistrata de células cúbicas a cuboides, tanto en la cara adaxial como abaxial, con su eje mayor paralelo a la superficie cotiledonal (Fig. 4).

Ambas superficies se presentan homogéneas, sin estomas ni tricomas, aunque con variaciones en el tamaño celular y con presencia de CP y CL (Fig. 4), en coincidencia con lo reportado por Barboza *et al.* (2001), Arias (2007) y Cardinali *et al*. (2010). Por otra parte, en este tejido, el volumen celular promedio de las semillas grandes duplica al de las chicas (Tabla 3).

Parénquima en empalizada

Ambos tipos de semilla presentan por debajo de la epidermis células alargadas de paredes primarias. Se disponen ordenadas, comprimidas lateralmente, sin espacios intercelulares y de forma y tamaño uniforme. Coincidentemente con Cardinali *et al.* (2010) se muestran con forma de prisma cuboide, con su eje mayor orientado perpendicularmente al eje cotiledonal (Fig. 4). No obstante la uniformidad de este tejido, se observa que el tamaño celular de las semillas chicas es significativamente superior al de las semillas grandes, del orden del 36% (Tabla 3) y en concordancia con las funciones reservantes este tejido muestra abundante presencia de CP y CL.

Parénquima esponjoso

Las células de este tejido en ambos tratamientos se presentan aproximadamente isodiamétricas, dispuestas en varias capas, sólo una o dos en la zona apical y aumentando progresivamente hacia la zona medial de la lámina cotiledonal. Su forma y dimensiones se mantienen prácticamente constantes en toda su extensión, hasta su límite con la epidermis abaxial. (Fig. 6).

En este tejido, el tamaño celular de las semillas chicas es 52% mayor al de las semillas grandes, superando las diferencias verificadas en el parénquima en empalizada (Tabla 3). Asimismo, como importante tejido reservante, muestra una abundante presencia de CP y CL (Figs. 4 y 6).

Los resultados referidos al volumen celular podrían relacionarse con las estrategias en la acumulación de reservas y su nivel de energía, principalmente de aquellas presentes en el mesofilo de ambos tipos de semillas. Así, los mayores volúmenes celulares en las semillas chicas representan una alta relación protoplasto/pared y en consecuencia un mayor volumen protoplasmático disponible para alojar principalmente CL, los cuales se presentan en mayor cantidad en los parénquimas de semillas chicas. Esta alta relación determina menor contenido de componentes de

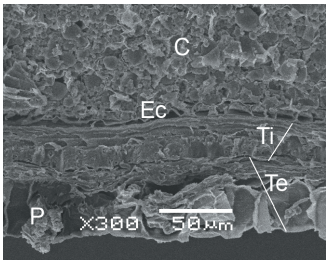


Fig. 5. Vista de la cubierta seminal con células vacías de contenido, producto del procesamiento para su observación en MEB y pelo parcialmente externalizado. (P= pelo, C = Cotiledón, Ec = epidermis cotiledonal, Ti = tegumento interno, Te = tegumento externo).

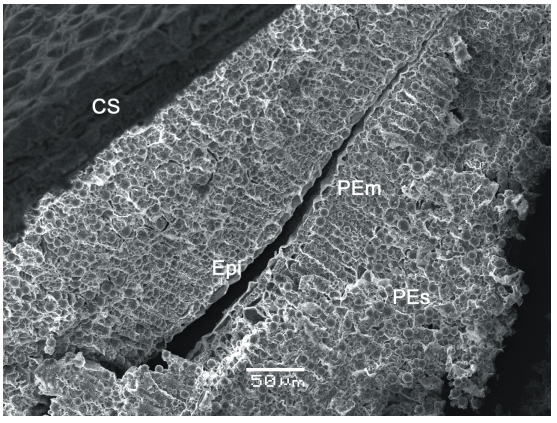


Fig. 6. Corte longitudinal de semilla. (CS = Cubierta Seminal, PEm = Parénquima en empalizada, PEs = Parénquima esponjoso, Epi = Epidermis).

pared, que básicamente son carbohidratos, con aproximadamente la mitad del contenido energético respecto de las reservas acumuladas en los CL.

Por el contrario, otras especies con semillas de mayor tamaño y consecuentemente con mayor cantidad de reservas, obtienen gran parte de la energía para la germinación, a partir de hidratos de carbono propios de pared. En este sentido, los tejidos cotiledonales de *Impatiens, Lupinus, Primula y Tropaeolum* presentan proporcionalmente abundantes reservas de carbohidratos en sus paredes celulares tales como hemicelulosa, que por hidrólisis origina manosas y otros monosacáridos fácilmente metabolizables (Meier, 1958).

Cuerpos proteicos

C. glutinosa presenta CP en los tejidos cotiledonales de ambos tipos de semillas, principalmente en los parénquimas y en menor cantidad en la epidermis (Tabla 5). Estos resultados coinciden con los descriptos por Arias (2007) para esta misma especie, y Maldonado & Lott (1991) para *Datura stramonium* L. y Lott *et al*. (1971) para *Cucurbita maxima* Duch., en las cuales observaron presencia de CP en todos los tejidos cotiledonales.

Los CP, de forma esférica, ocupan una gran porción del citoplasma de las células del embrión de *C. glutinosa* (Fig. 6), en concordancia con lo observado por Maldonado & Lott (1991) en *Datura stramonium*, Citharel & Citharel (1985) en *Cytisus scoparius* L. Link, Briarty *et al*., (1969) en *Vicia faba* L. y Spitzer & Lott (1982) en Apiáceas Estos autores reportan para las especies estudiadas importantes variaciones en el tamaño de estas organelas. Sin embargo, *C. glutinosa* presenta CP de gran tamaño, con un diámetro promedio cercano a los 8 µm y sin diferencias significativas entre los parénquimas cotiledonales, ni entre semillas grandes y chicas (Tabla 4). Arias (2007), trabajando con semillas de tamaño intermedio, de 0,8 g/mil semillas, observó CP con volúmenes 10 y 20% inferiores en los parénquimas esponjoso y en empalizada, respectivamente, en relación con los volúmenes obtenidos en el presente trabajo.

En tanto, el tejido epidérmico muestra CP de pequeño tamaño, con diámetros promedio de 3,3 µm, pero con gran uniformidad en ambos tamaños de semilla (Tabla 4)**.** Estos resultados coinciden con los reportes de Arias (2007).

En cuanto al número de CP por unidad de superficie, los mayores valores se presentaron en el parénquima en empalizada de semillas grandes, con diferencias altamente significativas con respecto a los observados en semillas chicas. Menores diferencias, aunque también significativas, favorables a las semillas grandes, se apreciaron entre los parénquimas esponjosos de ambos tamaños de semillas. En tanto, el número de CP entre las epidermis de ambos tamaños de semilla, no mostró mayores diferencias, aunque con valores muy inferiores a los que presentan los parénquimas de ambas semillas, particularmente a aquellos de semillas grandes (Tabla 5).

Inclusiones

En cuanto a la estructura interna, los CP están constituidos por una matriz proteinácea, que en muchas especies contiene inclusiones (Lott, 1981; Lott *et al*., 1971). En el presente trabajo, las imágenes del MEB muestran con gran detalle, zonas huecas bien definidas en la periferia de la matriz proteinácea, que corresponden a globoides cristalinos. Estas son las inclusiones más comunes observadas en este trabajo (Fig. 7) y asimismo, las más abundantes encontradas también en *C.*

Tabla 3. Volumen promedio de las células en los tres tejidos.

Tejidos Cotiledonales	Volumen celular promedio (µm³)	
	Semillas Grandes	Semillas Chicas
Epidermis	1092,3 ± 100,98	517,9 ± 52,35
P. empalizada	4671,3 ± 402,18	6393,3 ± 533,66
P. esponjoso	2326,8 ± 210,78	3556 ± 298,36

Tabla 4. Diámetro promedio expresado en (µm), de CP y CL en los distintos tejidos cotiledonales.

Tejidos Cotiledonales	Tipo de Cuerpo	Semillas grandes, Diámetro (µm)	Semillas chicas Diámetro (µm)
P. empalizada	CP	7,97 ± 1,04	7,56 ± 1,66
	CL	2,87 ± 0,72	3,07 ± 1,08
P. esponjoso	CP	8,01 ± 0,69	8,75 ± 1,08
	CL	3,15 ± 2,03	2,87 ± 2,54
Epidermis	CP	3,37 ± 0,86	3,38 ± 0,94
	CL	2,87 ± 0,72	1,88 ± 0,55

Tabla 5. Número de CP por unidad de superficie en los distintos tejidos cotiledonales.

Tamaño de la semilla	Epidermis N° /mm²	P. empalizada N° /mm²	P. esponjoso N° /mm²
Grandes	2958	9360	7920
Chicas	2680	6080	6660

Tabla 6. Número de CL por unidad de superficie en los tejidos cotiledonales.

Tamaño de la semilla	Epidermis N° /mm²	P. empalizada N° /mm²	P. esponjoso N° /mm²
Grandes	81200	16420	10660
Chicas	65000	38480	28460

glutinosa por Arias (2007). Los huecos observados se deben a la propia naturaleza química de esta inclusión, que se desprende durante el proceso de deshidratación y fijación, en coincidencia con lo observado por Lott (1981) y Maldonado & Lott (1991). Estas inclusiones poseen fitinas, particularmente importantes pues constituyen una fuente fundamental de reservas seminales, por el aporte de fosfatos y de elementos minerales esenciales, tales como calcio, magnesio, potasio, hierro, cinc, cobre y fósforo (Cardinali, 2004).

Otro tipo de inclusión también presente en *C. glutinosa*, aunque menos frecuente, son las biomineralizaciones cálcicas, que aparecen como formaciones prismáticas. Se las observa con formas poliédricas y rectangulares muy refringentes, que se aprecian claramente enclavadas en la superficie del CP (Fig. 8). En numerosas especies es frecuente hallar cristales de drusas (Lott, 1981), sin embargo, en este trabajo, al igual que lo reportado por Arias (2007) no se ha observado la presencia de cristalizaciones que respondan a la particular forma que muestra ese tipo de mineralización.

Los trabajos de Spitzer *et al*. (1981) y Maldonado & Lott (1991) reportan importantes variaciones en el tamaño y número de las inclusiones en diferentes especies. Para *C. glutinosa*, Arias (2007) describe una relación directa entre el tamaño del CP y el tamaño y número de las inclusiones encontradas. En el presente trabajo no se observan variaciones de consideración entre CP de diferentes tejidos cotiledonales, excepto en el tejido epidérmico. No obstante, es posible apreciar huecos de distintos tamaños que permiten inferir la presencia de globoides de diferentes medidas (Fig. 7), aún en CP de dimensiones similares. Eso indicaría que las inclusiones pueden presentar una gran variación, y en consecuencia, sería poco probable y práctico pretender considerar a esta característica como un parámetro potencialmente importante en estudios taxonómicos, tal como propone Lott (1981).

Cuerpos Lipídicos

Las reservas lipídicas se acumulan en CL, que se caracterizan por presentar forma esférica de pequeño tamaño en comparación con los CP (Figs. 4 y 9). Se ubican en todos los tejidos cotiledonales, particularmente abundantes en el tejido epidérmico

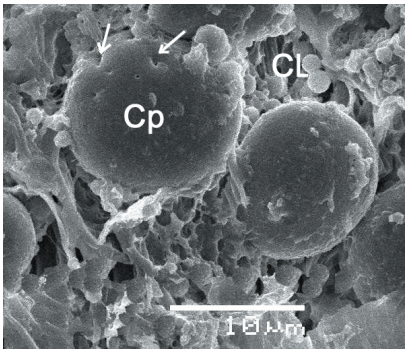


Fig. 7. Detalle de cuerpos proteicos. Las flechas indican las huellas dejadas por inclusiones (huecos). (CP = Cuerpos Proteicos, CL = Cuerpos Lipídicos).

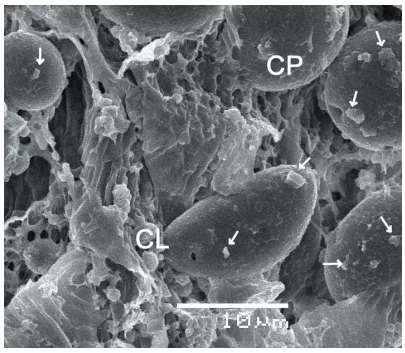


Fig. 8. Cuerpos proteicos con notables biomineralizaciones cálcicas (flechas). (CP = Cuerpos Proteicos, CL = Cuerpos Lipídicos).

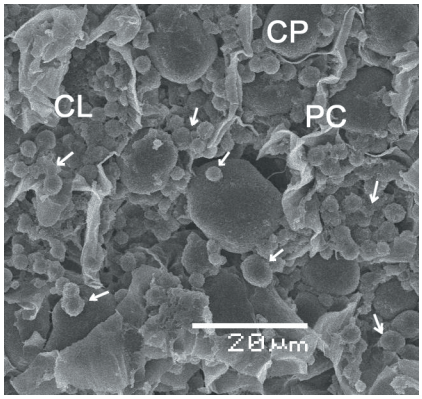


Fig. 9. Detalle de parénquima esponjoso de semilla chica. Se aprecia la abundancia de CL (flechas) y la notoria diferencia de tamaño con los CP.
(CP = Cuerpos Proteicos, CL = Cuerpos Lipídicos, PC = Pared Celular)

(Tabla 6). Estos resultados coinciden con los presentados por Qu *et al*., (1986) y Herman (1995), quienes trabajaron en maíz y soja, respectivamente.

Los CL se disponen compactadamente en el citoplasma de los diferentes tejidos y en íntimo contacto con los CP (Fig. 9), tal como lo observado por Arias (2007). De acuerdo a lo afirmado por Tzen *et al*., (1993), la variada compartimentalización de estas reservas facilita la movilización y en consecuencia, un eficiente suministro energético, para soportar el crecimiento del embrión durante la germinación y el crecimiento postgerminativo de la plántula.

El análisis detallado de la distribución de CL muestra un muy alto número en las epidermis de ambos tipos de semillas, pero de un tamaño significativamente menor, particularmente en la epidermis de semillas grandes. Este número desciende drásticamente en los parénquimas en empalizada y esponjoso, particularmente en las semillas grandes, que apenas representa el 50% del contenido en las semillas chicas (Tabla 6). La relación del número de CL entre la epidermis y los parénquimas coincide con lo determinado por Arias (2007), para semillas de tamaño intermedio.

Según Crane *et al*., (2003) los CL con contenidos de triacilglicéridos (TAG) de cadena corta tiene mayor tendencia a cristalizar a baja temperatura y en consecuencia a generar la pérdida de viabilidad de la semilla; pero su trabajo mostró que este efecto puede ser prevenido por un pulso de calor de 45 C°, previo a la imbibición. *C. glutinosa,* con TAG de cadena media, presenta cierto riesgo en este sentido por las condiciones naturales de su hábitat. Sin embargo, el riesgo a la pérdida de viabilidad por baja temperatura podría ser atenuado o anulado por las altas temperaturas, que frecuentemente suelen presentarse durante la estación de fructificación. En consecuencia, el germoplasma de *C. glutinosa* podría ser conservado almacenando las semillas en condiciones de muy baja temperatura, del orden de -18 C°, pero se evitarían los daños durante la imbibición exponiéndolas previamente a un pulso de alta temperatura.

Por otro lado, los CL de gran tamaño contienen una menor proporción de oleosinas, lo que aumenta la tendencia a coalescer durante la imbibición, ya que esta proteína actúa como estabilizadora del CL (Leprince *et al*., 1998). *C. glutinosa* presenta CL de gran tamaño y en consecuencia con bajo contenido de oleosinas; no obstante, se los observa aislados, independientes unos de otros, o en contacto pero sin coalescer, tanto en preparados frescos como en cortes sometidos a distintos tratamientos, para ser observados con microscopio óptico y MEB.

El alto contenido de CL presente en las semillas chicas se puede interpretar como una estrategia para mantener un adecuado nivel energético en semillas de bajo peso, que permite satisfacer adecuadamente las demandas de energía requeridas durante la germinación y las primeras etapas del crecimiento de la plántula. Por ello, en función de la acumulación de reservas y de su energía, es posible inferir que las semillas de diferentes tamaños de esta especie no presentarían diferencias importantes en este sentido. En efecto, las semillas pequeñas aumentan la calidad de sus reservas, acumulando mayor cantidad de lípidos, y en consecuencia una mayor carga energética por unidad de peso, lo que compensa la menor cantidad de reservas totales en semillas de menor tamaño.

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 a la Lic. Mónica Esther Arias por el asesoramiento brindado.

El presente trabajo se enmarca en el proyecto EXA 478/10 "Estudio integral de especies medicinales autóctonas: *Cuphea glutinosa* Cham. *et* Schldtl. Nativa de las sierras bonaerenses", financiado por la UNMdP.

Bibliografia

ARIAS, M. E. 2007. *Estudio Morfológico y Anatómico de Semillas de Cuphea glutinosa Cham. et Schldtl.* Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UNMdP. 4, 30 -35. Mar del Plata.

BARBOZA, G., N. BONZANI, E. FILIPPA, M. LUJÁN, R. MORENO, M. BUGATTI, N. DECOLATTI & L. ARIZA ESPINAR. 2001. *Atlas Histo-morfológico de Plantas de Interés Medicinal de Uso Corriente en la Argentina*. Universidad Nacional de Córdoba, 59-61. Córdoba.

BRIARTY, L. G., D. A. COULT & D. BOULTER. 1969. Protein bodies of developing seeds of *Vicia fava*. *J. Exp .Bot.* 20: 358-372.

CABRERA, A. L. & E. M. ZARDINI. 1978. *Manual de la Flora de los alrededores de Buenos Aires*. Editorial Acme. Buenos Aires.

CARDINALI, F. J. 2004. *Fundamentos fisiológicos de la germinación*. Ed. Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata.

CARDINALI, F. J., M. E.DI SANTO & M. A. THEVENON. 2009. *Secuencia de la floración y la fructificación y calidad de semilla en Cuphea glutinosa Cham et Schltdl. (Lythraceae)*. Actas de XXXII Jornadas Argentinas de Botánica, Huerta Grande, Córdoba. Argentina.

CARDINALI, F. J., M. A.THEVENON & M. E ARIAS. 2010. Estudio morfoanatómico de la semilla y de las reservas proteicas y lipídicas en tejidos cotiledonales de *Cuphea Glutinosa* (Lythraceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 45: 47-55.

CITHAREL L. & J. CITHAREL. 1985. Protein bodies from the cotyledons of *Cytisus scoparius* L. (Link). Ultraestructure, isolation, and subunit composition of albumin, legumin and vicilin. *Planta* 166: 39-45.

CORRENS, C. 1892. Über die Epidermis der Samen von *Cuphea viscosissima*. Ber d. Deutsch. Bot. Gesellsch 10: 143-152.

CRANE J., A. MILLER, J. WILLIAM VAN ROCKEL & C. WALTERS. 2003. Triacylglycerols determine the unusual storage physiology of *Cuphea* Seed. *Planta* 217: 699-708.

GRAHAM, S. A. 1988. *Revision of Cuphea section Heterodon (Lythraceae)*. Systematic Botany Monographs. 20: 1-168.

GRAHAM, S. A. 1989. Cuphea: a new plant source of medium-chain fatty acids. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 28: 139-173.

GRAHAM S. A., HIRSINGER F. & G. ROBBELEN. 1981. Fatty acids of Cuphea (Lythraceae) seed lipids and their systematic significance. *Amer. J. Bot*. 68: 908-917.

HERMAN, E. M. 1995. *Cell and molecular biology of cell oil bodies*. In: Kigel J. Galili G. (eds.). Seed development and germination. Dekker, New York.

HIRSINGER, F. & P. F. KNOWLES. 1984. Morphological and agronomic description of selected Cuphea germplasm. *Econ. Bot.* 38, 439-45.

HIRSINGER, F. 1985. Agronomic potencial and seed composition of Cuphea, an annual crop for lauric and capric seed oil. *J. Amer. Oil Chem. Soc*. 62:76-80.

KNAPP, S. J. 1993. *Breakthroughs towards the domestication of Cuphea*. In: J. Janick, and J. Simon (eds.), New crops. Wiley, New York.

KOEHNE, E. 1903. *Lythraceae*. IV. 216. In A. Engler [ed.] Das Pflanzeinreich. Regni Vegetabilis conspectus. Heft 17.

LEPRINCE , O., A. C. VAN AELST, H. W. PRITCHARD & D. I. MURPHY. 1998. Oleosins prevent oil bodies coalescence during seed imbibition as suggested by a low temperature scanning electron microscope study of dessication tolerant and sensitive oilseeds. *Planta* 204:109 –119.

LOTT, J. N. A. 1981. Protein bodies in seeds. Nord. *J. Bot.* 1: 421-432.

LOTT, J. N. A., P. L. LARSEN & J. J. DARLEY. 1971. Protein bodies from the cotyledons of *Cucurbita maxima*. *Can. J. Bot*. 49: 1777-1782.

MALDONADO S. & J. N. A. LOTT. 1991. Protein bodies in *Datura stramonium* seeds: structure and mineral nutrient composition. *Can. J. Bot.* 69: 2545-2554.

MEIER, H. 1958. *On the structure of cell walls and cell wall mannans from ivory nuts and from dates,* In Anatomía de las Plantas con semilla, K. Esau, 1993.

QU, R., S. M. WANG, Y. H. LIN, V. B. VANCE & A. H. C. HUANG. 1986. Characteristics and biosynthesis of membrane proteins of lipid bodies in the scutella of maize (*Zea mays). Biochem. J*. 234: 57-67.

SPITZER, E. & J. N. A. LOTT. 1982. Proteis bodies in umbelliferous seeds. I. Structure. *Can J. Bot.* 60: 1381-1391.

SPITZER, E., M. WEBBER & J. N. A. LOTT. 1981. Elemental composition of globoid crystals in protein bodies of wheat grain grown on soil treated with sewage sludge. *Can. J. Bot*. 59: 403.

STUBBS, J. M. & A. R. SLABAS. 1982. Ultraestructural

and biochemical characterization of the epidermal hairs of the seeds of *Cuphea procumbens*. *Planta* 155: 392-399.

THOMPSON, A. E. 1984. Cuphea a potential new crop. *Hort. Science* 19:352-354.

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.

YAGUEDDÚ, C., A. C. MARTÍNEZ TOSTO, S. BEVACQUA & M. O. ARRIAGA. 2001. *Morfología y Anatomía Foliar de Cuphea glutinosa Cham. et Schldtl*. Actas XXVIII Jornadas Argentinas de Botánica, Santa Rosa, La Pampa.

Recibido el 23 de junio de 2011, aceptado el 11 de abril de 2012.