

II. Cristales de Oxalato de Calcio de las Especies del Género *Senna*, Sección *Chamaefistula* de la Argentina

El oxalato de calcio ocurre en dos formas de hidratación: como monohidrato monoclinico y como dihidrato tetragonal. Más recientemente los aspectos de los cristales de oxalato de calcio en las plantas han sido revisados por Franceschi & Horner (1980). La cristalografía del oxalato de calcio ha sido descrita por Frey-Wyssling (1981).

Los cristales de oxalato de calcio tienen una muy baja solubilidad; son insolubles en ácido acético pero solubles en ácido clorhídrico concentrado y ácido sulfúrico, dando este último por resultado cristales de sulfato de calcio. Estas propiedades han sido ampliamente usadas para identificar los cristales como compuestos de oxalato de calcio (Netolitzky 1929). El oxalato de calcio también puede ser identificado por métodos histoquímicos. Esto ha sido hecho por el método de Yasue (1969) para los cristales en las hojas de Leguminosas (Horner & Zindler-Frank 1982) y para los cristales en los nódulos de la raíz de un número de especies (Sutherland & Sprent 1984).

Los tipos y naturaleza de los cristales pueden ser: 1. Cristales solitarios; 2. Maclas; 3. Drusas; 4. Ráfides; 5. Estiloides; 6. Arena cristalina.

En las Leguminosas los cristales de oxalato de calcio monohidratados son un rasgo prominente de la familia bajo la forma de cristales solitarios, cristales gemelos (maclas) y drusas. La presencia de cristales gemelos ha sido estudiada por (Wattendorff 1978; Horner & Zindler-Frank 1982; Arnott & Webb 1983).

Los miembros de la familia se caracterizan por diferir en el tipo y localización de los cristales; por ejemplo, en la hoja pueden estar en la epidermis, en el mesofilo, en el floema o más raramente ausentes. Como en otras plantas la localización y tipo de cristales son característicos de ciertos taxones y ciertamente fijados genéticamente (Arnott & Pautard 1970; Franceschi & Horner 1980); por ejemplo, las drusas únicamente han sido encontradas en la subfamilia *Caesalpinioideas*.

El conocimiento de los cristales en las Leguminosas ha debido su desarrollo principalmente por su interés en la investigación taxonómica y filogenética, siendo la mayor información útil el resultado de los trabajos de (Solereder 1899; Metcalfe & Chalk 1979; Metcalfe 1983; Zindler-Frank 1987). Dada la estabilidad de los tipos cristalinos y de su distribución es también una forma muy utilizada en farmacognosia para chequeos de rutina en plantas destinadas a la alimentación y/o a la producción de drogas (Metcalfe & Chalk 1989).

El camino de la biosíntesis del oxalato en las Leguminosas es desconocido, pero se sabe que la cantidad de calcio disponible para la planta influye en la precipitación. Los cristales a menudo precipitan dentro de la vacuola en células cristalíferas que a menudo son idioblásticas y difieren de las otras células en su forma, tamaño y estructura interna.

Materiales y Métodos

Para el estudio de los cristales las observaciones se realizaron sobre porciones de 3-4 mm de hoja, tallo y fruto deshidratados y secados al aire. La composición química de los cristales de oxalato se analizó con un microscopio electrónico de barrido Philips 505 equipado con microsonda EDAX del Servicio de Microscopía del Centro de Investigación y Desarrollo en Procesos Catalíticos (CINDECA), La Plata. Se obtuvo el espectro EDAX característico del calcio, único catión presente, y se trazó el espectro característico de dicho elemento con el sistema gráfico Princeton.

Resultados

En el estudio del material de *Senna* se encontraron cristales solitarios, más frecuentemente maclas formadas por dos cristales gemelos y drusas en los parénquimas de los diferentes órganos (**Tabla 3**). Las maclas o cristales geminados hallados corresponden a los que presentan dos individuos simétricos respecto a un plano, como si uno de ellos se hubiese originado a partir de otro, cortado por la mitad y colocadas simétricamente ambas mitades. El plano que separa las dos mitades es un plano de simetría del conjunto, llamado plano de macla. Las drusas son asociaciones irregulares de cristales yuxtapuestos sin orden alguno.

El análisis con microsonda EDAX de las maclas y drusas en especies representativas reveló que los cristales están constituidos por calcio y no contienen magnesio u otros cationes. Se obtuvo el espectro de rayos X característico del elemento Calcio (**Figs. 8-11**).

En el presente estudio el tipo y distribución de los cristales (**Tabla 3**) son el carácter quimiotaxonómico incluido en la clave de diferenciación de las especies de *Senna*, sección *Chamaefistula*. También estos datos forman parte de la matriz básica de datos empleada en el análisis de las relaciones de similitud entre las especies.

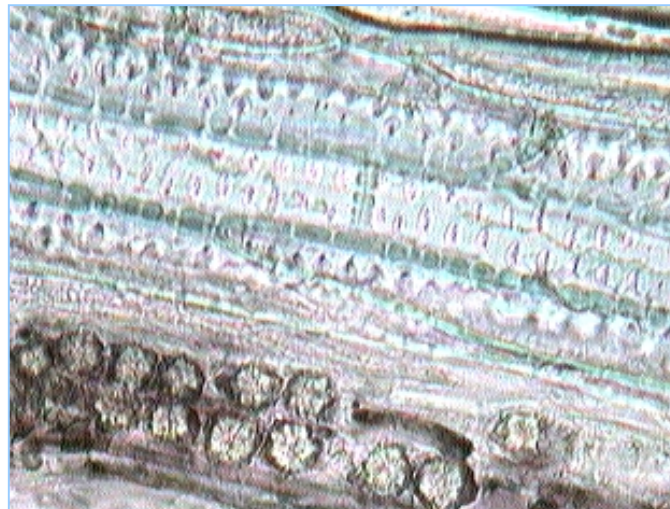
Conclusiones y Discusión

Los cristales solitarios y geminados (maclas) siempre se encuentran en el parénquima asociado a los tejidos lignificados (fascículos, casquetes o anillos de fibras esclerenquimáticas y esclereidas). *Senna arnottiana* presentó muy numerosos cristales prismáticos solitarios y maclas rodeados por mucilagos en los distintos órganos, incluso en la epidermis foliar (**Tabla 1, 3 y Fig. 8**). En *S. birostris* var. *hookeriana* los cristales fueron escasos en todos sus órganos (**Tabla 1, 3 y Fig. 9**). Las restantes especies presentaron cristales solitarios y maclas en mayor o menor grado en relación con la mayor o menor proporción de tejidos lignificados en la hoja y el tallo. Todas las especies tienen en el mesocarpo del fruto una capa cristalífera, junto al estrato fibroso del endocarpo (**Fig. 10**). En algunas especies, por ejemplo en *Senna hilariana*, también se encontraron cristales solitarios en el epicarpo (epidermis e hipodermis), cristales solitarios, maclas y drusas en el mesocarpo e incluso cristales solitarios, a veces asociados a esclereidas, en el parénquima del endocarpo.

Las drusas se encuentran en el parénquima y floema de la hoja [peciolo (**Fig. 11**), raquis, peciólulo y lámina del folíolo], fueron especialmente numerosas en el mesofilo foliar de *Senna burkartiana*, *S. hirsuta* var. *streptocarpa*, *S. morongii*, *S. nana*, *S. oblongifolia*, *S. pendula* var. *paludicola* y *S. subulata* (**Tabla 1 y 3**); en el tallo están presentes en el parénquima cortical, medular y radios medulares del floema, excepto en *Senna araucarietorum*, *S. amottiana*, *S. birostris* var. *hookeriana* y *S. pilifera*, donde se observaron sólo en la médula; en el fruto se observaron en el parénquima del mesocarpo y/o en el parénquima del endocarpo, por ejemplo en *Senna araucarietorum*, *S. hilariana*, *S. hirsuta* var. *streptocarpa*, *S. leiophylla*, *S. morongii*, *S. nana*, *S. pendula* var. *paludicola*, *S. scabriuscula* y *S. subulata*.

Los primeros en mencionar la existencia de cristales en la familia Leguminosas fueron: Solereder (1899) en el género *Cassia* y posteriormente Watson (1981) en *Senna*. En el presente estudio los tipos de cristales hallados en el género *Senna* coinciden con los citados en trabajos previos y se confirma la presencia de drusas en la subfamilia Caesalpinioideae, carácter dado como exclusivo dentro de la familia Leguminosas.

CORTE LONGITUDINAL DEL TALLO MOSTRANDO DRUSAS EN EL PARÉNQUIMA DEL FLOEMA



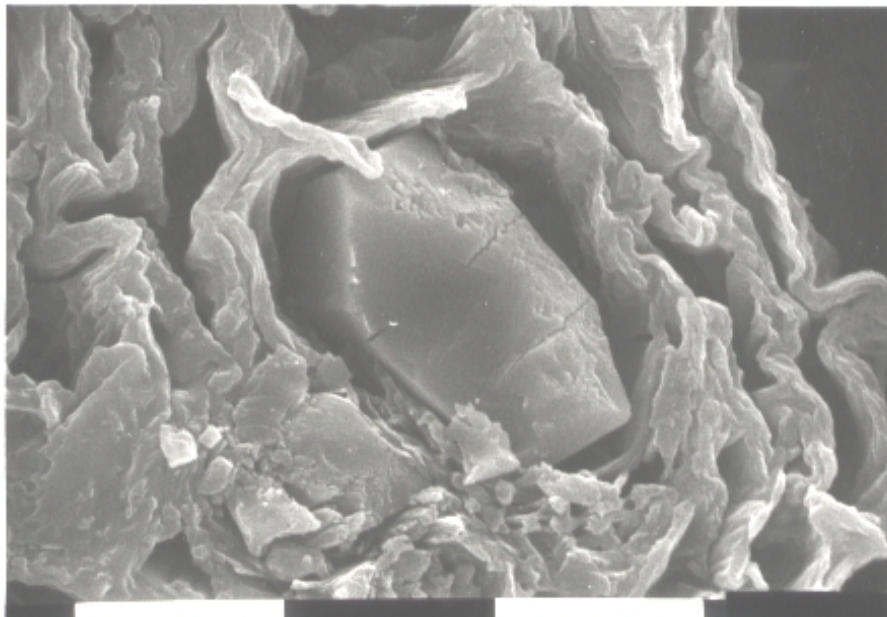
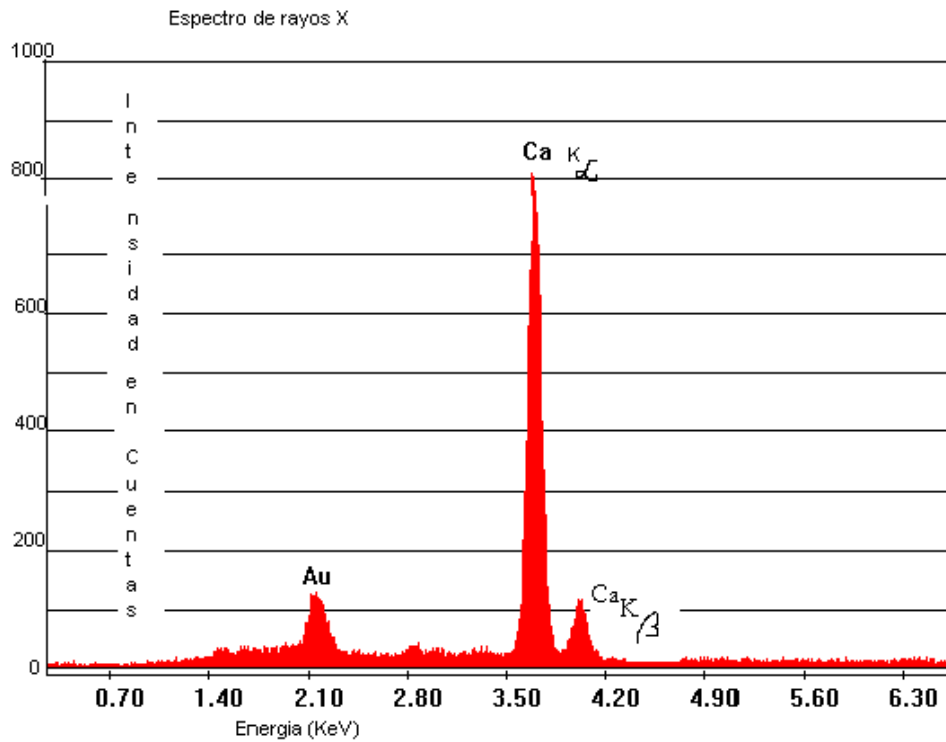


Fig. 8: *Senna arnottiana* (Hook.) H.S. Irwin & Barneby. Análisis MEB-EDAX de las maclas de oxalato de calcio presentes en el **tallo**, espectro EDAX correspondiente al catión calcio. Escala de la micrografía electrónica: 10 μm .

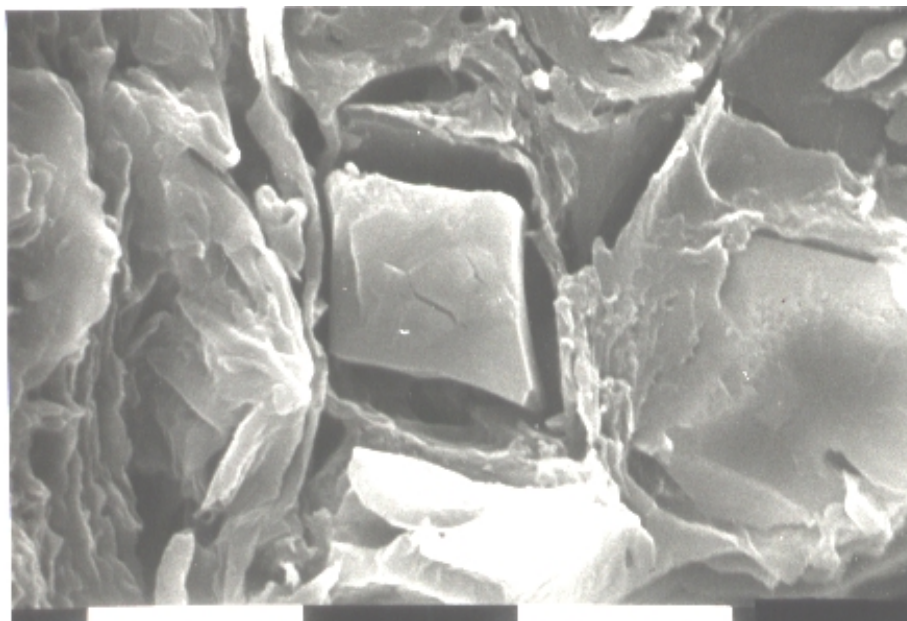
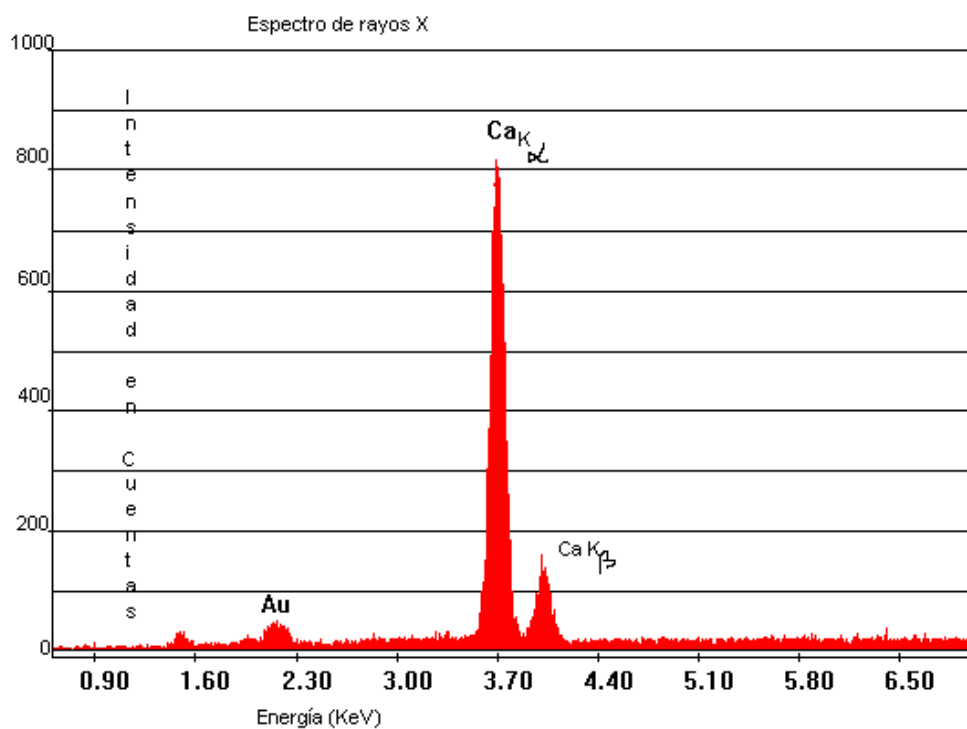


Fig. 9: *Senna birostris* (Domb. ex Vog.) var. *hookeriana* (Hook.) H.S. Irwin & Barneby. Análisis MEB-EDAX de las maclas de oxalato de calcio presentes en el tallo, espectro EDAX correspondiente al catión calcio. Escala de la micrografía electrónica: 10 μ m.

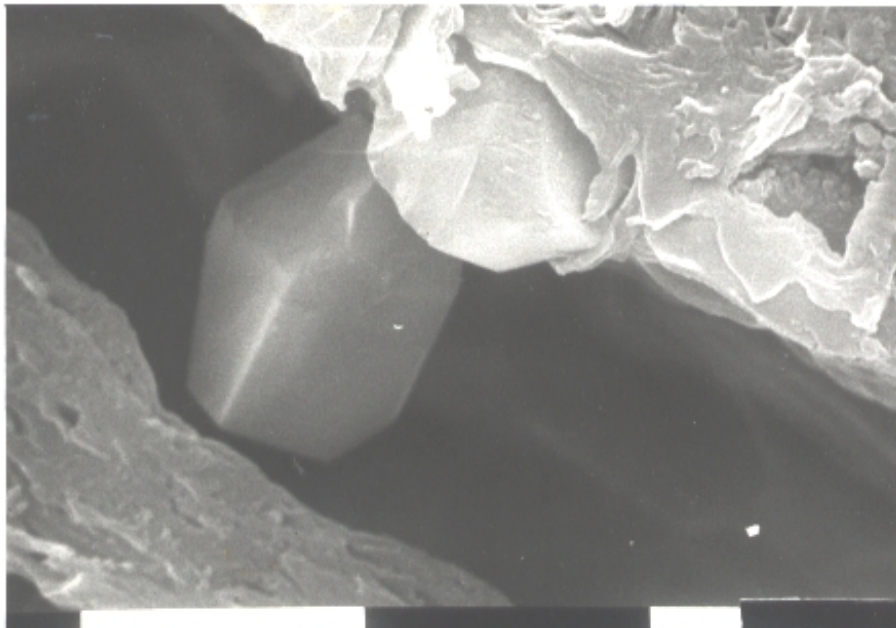
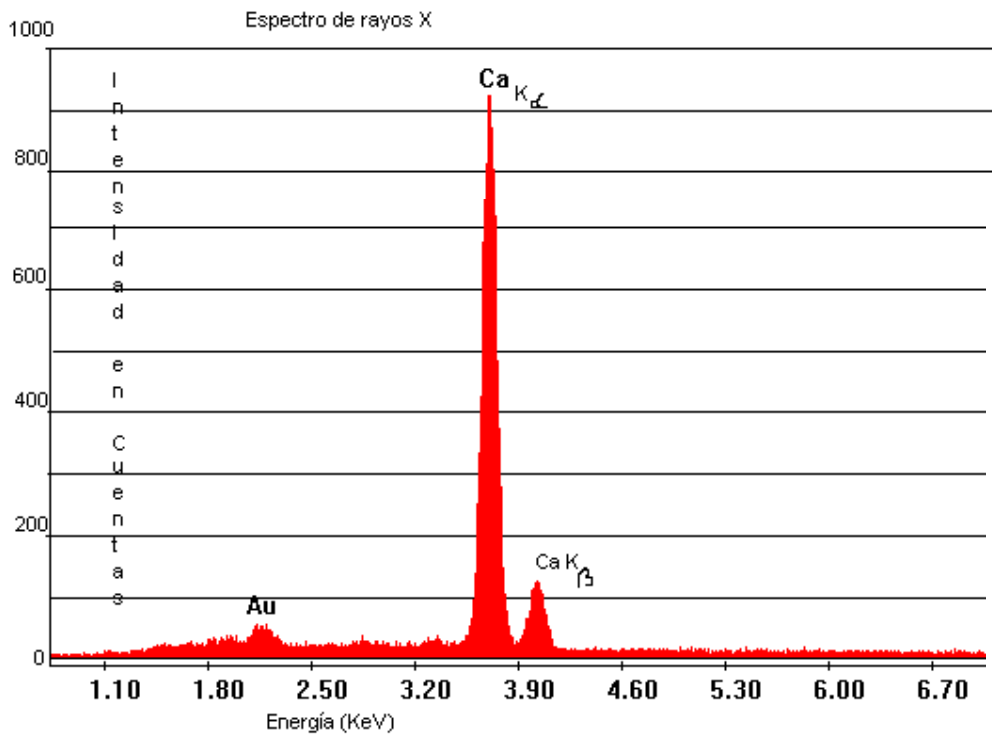


Fig. 10: *Senna hirsuta* (L.) H.S. Irwin & Barneby var. *streptocarpa* H.S. Irwin & Barneby. Análisis MEB-EDAX de las maclas de oxalato de calcio presentes en la capa cristalífera del **mesocarpo**, espectro EDAX correspondiente al catión calcio. Escala de la micrografía electrónica: 10 μ m.

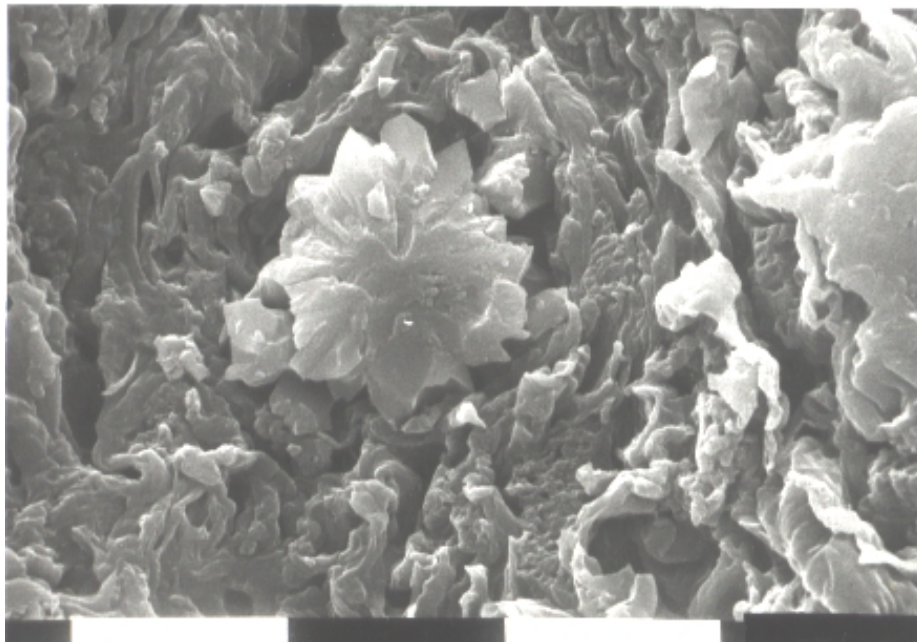
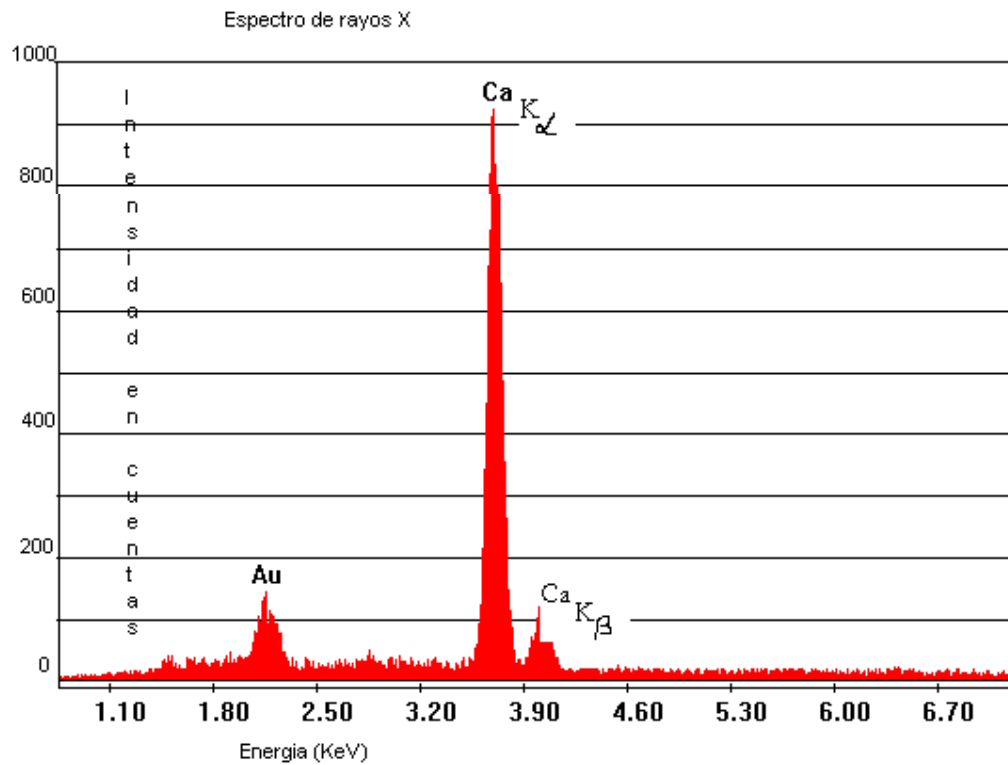


Fig. 11: *Senna morongii* (Britton) H.S. Irwin & Barneby. Análisis MEB-EDAX de las drusas de oxalato de calcio presentes en el **pecíolo**, espectro EDAX correspondiente al catión calcio. Escala de la micrografía electrónica: 10 μm .

Tabla 3. Cristales de oxalato de calcio: presencia, tipo y distribución en los órganos vegetativos y reproductivos de las especies del género *Senna*, sección *Chamaefistula* de la Argentina.

TAXA	FOLÍOLO (LÁMINA)	PECÍOLO	RAQUIS	TALLO	FRUTO
<i>Senna araucarietorum</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> ausentes en el mesofilo. <i>Drusas</i> ausentes en el floema. <i>Maclas</i> numerosas en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en la médula	Id. pecíolo	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en la médula	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo. <i>Cristales solitarios y maclas</i> en el mesocarpo. <i>Maclas y Drusas</i> en el parénquima del endocarpo
<i>S. arnotiana</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> en la epidermis, junto a las fibras de las venas y en el mesofilo. Abundantes en el mesofilo predominando en la parte basal de la lámina. <i>Drusas</i> ausentes en el mesofilo. <i>Drusas</i> ausentes en el floema. <i>Maclas</i> ausentes en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima y en todo el parénquima, abundantes	Id. pecíolo	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima y en el parénquima cortical, floema y médula. <i>Drusas</i> en la médula, escasas.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo, con escasos cristales.
<i>S. birostris</i> var. <i>hookeriana</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las venas, escasos. <i>Drusas</i> muy pocas en el mesofilo. <i>Drusas</i> ausentes en el floema. <i>Maclas</i> ausentes en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en la médula, muy pocas.	Id. pecíolo	Idem pecíolo	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo, con escasos cristales.
<i>S. burkartiana</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las venas. <i>Drusas</i> numerosas en el mesofilo, predominando hacia la parte basal de la lámina; ubicadas en la proximidad de la vena media. <i>Drusas numerosas</i> en el floema y en el colénquima. <i>Maclas</i> ausentes en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, floema y médula.	Id. pecíolo	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en los radios medulares del floema y en la médula,	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo. <i>Cristales solitarios</i> asociados a esclereidas en el endocarpo.

Tabla 3. (Continuación)

TAXA	FOLÍOLO (LÁMINA)	PECÍOLO	RAQUIS	TALLO	FRUTO
<i>S. corymbosa</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> en el mesofilo predominando hacia la parte basal de la lámina; ubicadas en la proximidad de la vena media. <i>Drusas</i> escasas en el floema. <i>Maclas</i> numerosas en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las venas. <i>Drusas</i> en el floema y médula.	Id. pecíolo	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en los radios medulares del floema y en la médula.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo.
<i>S. hilariana</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> en el mesofilo principalmente numerosas hacia la parte apical de la lámina; ubicadas en la proximidad de la vena media. <i>Drusas</i> ausentes en el floema. <i>Maclas</i> numerosas en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las venas. <i>Drusas</i> en la médula	Id. pecíolo	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Cristales solitarios y maclas</i> en la epidermis y colénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en los radios medulares del floema y en la médula.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> en el epicarpo y mesocarpo. <i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo <i>Drusas</i> en el mesocarpo.
<i>S. hirsuta</i> var. <i>puberula</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las venas. <i>Drusas</i> escasas en el mesofilo predominando hacia la parte basal de la lámina. <i>Drusas</i> ausentes en el floema. <i>Maclas</i> ausentes en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Cristales solitarios y maclas</i> en la epidermis y colénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en el floema y en la médula.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las venas. <i>Drusas</i> en la médula	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Cristales solitarios y maclas</i> en la epidermis y colénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en el floema y en la médula.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo.
<i>S. hirsuta</i> var. <i>streptocarpa</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las venas. <i>Drusas</i> muy numerosas en el mesofilo. <i>Drusas</i> escasas en el floema. <i>Maclas</i> ausentes en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en el floema y en la médula.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las venas. <i>Drusas</i> en parénquima cortical y medula hacia la cara ventral.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en los radios medulares del floema y en la médula.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo. <i>Drusas</i> en el mesocarpo.

Tabla 3. (Continuación)

TAXA	FOLÍOLO (LÁMINA)	PECÍOLO	RAQUIS	TALLO	FRUTO
<i>S. leiophylla</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> en el mesofilo, numerosas en la parte basal de la lámina. <i>Drusas</i> ausentes en el floema. <i>Maclas</i> numerosas en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> en la médula.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las venas. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical y medula hacia la cara ventral.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en el floema y en la médula.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo. <i>Drusas</i> en el mesocarpo.
<i>S. morongii</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las venas. <i>Drusas</i> numerosas en el mesofilo. <i>Drusas</i> ausentes en el floema. <i>Maclas</i> ausentes en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical y en la médula.	Id. pecíolo	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en el floema y en la médula.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo. <i>Drusas</i> en el mesocarpo, abundantes. <i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados a las esclereidas del parénquima del endocarpo.
<i>S. nana</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las venas. <i>Drusas</i> numerosas en el mesofilo, predominando en el parénquima aerenquimático. <i>Drusas</i> ausentes en el floema. <i>Maclas</i> ausentes en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Cristales solitarios, maclas y drusas</i> en el parénquima cortical y en la médula.	No hay	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en el floema y en la médula.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo. <i>Drusas</i> en el mesocarpo.
<i>S. oblongifolia</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> numerosas en el mesofilo, predominando en el parénquima aerenquimático. <i>Drusas</i> ausentes en el floema. <i>Maclas</i> numerosas en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en el floema y en la médula.	Id. pecíolo	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en los radios medulares del floema y en la médula.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo.

Tabla 3. (Continuación)

TAXA	FOLÍOLO (LÁMINA)	PECÍOLO	RAQUIS	TALLO	FRUTO
<i>S. obtusifolia</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> escasas en el mesofilo, predominando hacia la parte basal de la lámina; ubicadas en la proximidad de la vena media. <i>Drusas</i> numerosas en el floema. <i>Maclas</i> ausentes en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical hacia la cara ventral del pecíolo.	Id. pecíolo	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en los radios medulares del floema y en la médula.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo.
<i>S. occidentalis</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> escasas en el mesofilo. <i>Drusas</i> escasas en el floema. <i>Maclas</i> ausentes en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> en el floema y en la médula.	Id. pecíolo	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en los radios medulares del floema y en la médula.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo.
<i>S. pendula</i> var. <i>eriocarpa</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> ocasionales en el mesofilo y predominando en la parte basal de la lámina. <i>Drusas</i> numerosas en el floema. <i>Maclas</i> escasas en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en el floema y en la médula.	Id. pecíolo	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en el floema y en la médula.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo. <i>Drusas</i> en el mesocarpo. <i>Cristales solitarios</i> asociados a las esclereidas del parénquima del endocarpo.
<i>S. pendula</i> var. <i>missionum</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> ocasionales en el mesofilo, predominando en la parte basal de la lámina. <i>Drusas</i> escasas en el floema. <i>Maclas</i> numerosas en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en el floema y en la médula.	Id. pecíolo	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en el floema y en la médula.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo.

Tabla 3. (Continuación)

TAXA	FOLÍOLO (LÁMINA)	PECÍOLO	RAQUIS	TALLO	FRUTO
<i>S. pendula</i> var. <i>paludicola</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> numerosas en el mesofilo, predominando en la parte basal de la lámina. <i>Drusas</i> numerosas en el floema. <i>Maclas</i> escasas en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en el floema y en la médula.	Id. pecíolo	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en los radios medulares del floema y en la médula.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo. <i>Drusas</i> en el mesocarpo.
<i>S. pilifera</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> escasas y sólo en el mesofilo de la parte basal de la lámina. <i>Drusas</i> ausentes en el floema. <i>Maclas</i> numerosas en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical y en la médula, hacia la cara ventral del pecíolo.	Id. pecíolo	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo
<i>S. scabriuscula</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las venas y en la epidermis. <i>Drusas y cristales solitarios</i> escasos en el mesofilo, predominando en la parte basal de la lámina. <i>Drusas</i> ausentes en el floema. <i>Maclas</i> ausentes en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical y en la médula, hacia la cara ventral del pecíolo.	Como el pecíolo, pero se agregan <i>cristales solitarios y maclas</i> en la médula.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima y en la epidermis. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en el floema y en la médula.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo. <i>Drusas</i> en el mesocarpo.
<i>S. subulata</i>	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las venas. <i>Drusas</i> numerosas en el mesofilo, predominando en la parte basal de la lámina. <i>Drusas</i> numerosas en el floema. <i>Maclas</i> numerosas en la venación marginal.	<i>Cristales solitarios y maclas</i> junto a las fibras de las venas. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en el floema y en la médula.	Id. pecíolo	<i>Cristales solitarios y maclas</i> asociados al esclerénquima. <i>Drusas</i> en el parénquima cortical, en el floema y en la médula.	<i>Capa cristalífera</i> del mesocarpo. <i>Drusas</i> en el mesocarpo.