

ANATOMÍA DE LA CUBIERTA SEMINAL EN OCHO ESPECIES DE *PASSIFLORA* L., SUBGÉNERO *PASSIFLORA*

Seed coat anatomy in eight species of *Passiflora* L., subgenus *Passiflora*

Silvia PÉREZ-CORTÉZ¹, Marcia ESCALA² y Stephen TILLET³

¹ Dirección actual: Fundación Instituto Botánico de Venezuela, Jardín Botánico de Caracas, Av. Salvador Allende, Universidad Central de Venezuela. Apartado 2156. Caracas 1010-A, Venezuela. perezsi@camelot.rect.ucv.ve

¹ Postgrado en Botánica. Universidad Central de Venezuela, Apartado 20513. Caracas-Venezuela

² Centro de Botánica Tropical, Instituto de Biología Experimental. Universidad Central de Venezuela. Apartado 20513. Caracas-Venezuela. mescala@reacciun.ve

³ Herbario Dr. Víctor M. Ovalles. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Apartado 40109. Caracas-Venezuela. tilletts@camelot.rect.ucv.ve

RESUMEN

Se realizó el estudio anatómico de la cubierta seminal en ocho especies del género *Passiflora* L., con el objetivo de hallar características que permitan distinguir especies y contribuyan a resolver problemas taxonómicos presentes en el género. Se encontraron ocho patrones anatómicos diferentes considerando las siguientes características: grosor de la cubierta seminal, número de capas, tipo de capa y tipo de alargamiento radial de las células. Se observó una capa de macrosclereidas y una capa de células obliteradas en todas las especies estudiadas.

Palabras clave: Anatomía, Cubierta seminal, *Passiflora*, Passifloraceae, Semilla

ASBTRACT

The seed coat anatomy of eight species of genus *Passiflora* L. was studied in order to search for characteristics that would allow species distinction and resolve taxonomic problems. Eight anatomical patterns were found based on the seed coat thickness, number of coats, coat type and radial extension type of the cells. One layer of macrosclereid and one layer obliterated cells were observed in all the species studied.

Key words: Anatomy, Seed coat, *Passiflora*, Passifloraceae, Seed

INTRODUCCIÓN

Las características de la semilla son utilizadas para la identificación, clasificación y establecimiento de relaciones filogenéticas entre los taxa (Martin & Barkley 1973; Buth *et al.* 1987; Chuang & Lincoln 1992; Deginani 2001; Pérez-Cortéz *et al.* 2002). Entre las primeras investigaciones que incluyen las características de la semilla para la separación de grupos taxonómicos se pueden señalar los trabajos de

Netolitzky (1962) y Corner (1976), en los cuales se caracterizaron anatómica y morfológicamente las semillas de un gran número de familias y se establecieron relaciones entre ellas.

La estructura anatómica de la cubierta seminal puede caracterizar taxa a nivel de familia, y en algunos casos a nivel de género, pero puede ser modificada por ciertos factores como el tipo de fruto, la densidad de semillas en el fruto y las condiciones externas, entre otros. La anatomía de la cubierta seminal puede ser específica para cada especie y en ocasiones ayuda en la identificación taxonómica (Corner 1976; Werker 1997). Trabajos sobre las características de la semilla en especies del género *Passiflora* (Raju 1955; Pérez-Cortéz *et al.* 1995) señalan que en el grupo la anatomía podría tener valor diagnóstico. Deginani (2001) y Pérez-Cortéz *et al.* (2002) han reportado la importancia de la morfología de la semilla para la clasificación taxonómica de las especies en el género *Passiflora*.

La familia *Passifloraceae* está constituida por aproximadamente 600 especies distribuidas en 14 géneros: *Crossostemma*, *Schlechterima*, *Machadoa*, *Deidamia*, *Tryphostemma*, *Adenia*, *Hollrungia*, *Tetrapathea*, *Mitostemma*, *Dilkea*, *Tetrastylis*, *Paropsia*, *Ancistrothyrsus* y *Passiflora* (Killip 1938). De estos géneros, los ocho primeros son exclusivos del Viejo Mundo mientras que *Mitostemma*, *Dilkea*, *Tetrastylis*, *Paropsia* y *Ancistrothyrsus* son exclusivos del Nuevo Mundo. *Passiflora* se encuentra representado tanto en el Viejo como en el Nuevo Mundo, es el género que agrupa mayor número de especies (cerca de 500) de la familia *Passifloraceae*. En el tratamiento taxonómico de Killip (1938) el género *Passiflora* está dividido en 22 subgéneros y algunos de éstos están subdivididos en secciones y series. La separación de especies dentro del género *Passiflora* se dificulta debido a que este grupo de plantas tiene una estructura floral compleja y gran variabilidad en la morfología de las hojas. Esta investigación tiene como objetivo caracterizar la anatomía de la cubierta seminal y evidenciar su potencialidad como herramienta taxonómica.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material estudiado proviene de muestras depositadas en el Herbario Dr. Víctor Manuel Ovalles (MYF) de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela y en el Herbario Nacional de Venezuela (VEN), identificado por el Dr. Stephen Tillet. Se trabajó con semillas maduras de ocho especies ([Tabla 1](#)). Para el análisis anatómico de la cubierta seminal en secciones transversales se utilizó un microscopio óptico calibrado (Nikon Ophthifot 2). Se realizó la descripción usando 25 campos por especie y se consideraron las siguientes características: grosor de la cubierta seminal, número de capas, tipo de capa y tipo de alargamiento radial de las células (Rodríguez 1976; Lindorf *et al.* 1985; Buth *et al.* 1987; Haridasan & Mukherjee 1988; Kaur & Pal 1989; Corral *et al.* 1989; Small *et al.* 1990; Escala 1983, 1994). Para ablandar el material vegetal se colocó en una mezcla de etanol 70% y glicerina 40% en relación 1:1 por un período de 15 días; luego se hidrató en agua destilada por 24 horas y se fijó en etanol 70% por 48 horas (Jha & Pandey 1989; C. Sánchez com. pers. 1995). Posteriormente se realizó la deshidratación gradual en una serie compuesta por una mezcla de alcohol butílico terciario (ABT), glicerina, etanol y agua destilada, colocando la muestra en cada concentración de alcohol (50, 70, 85, 95, 100, ABT) durante 24 horas hasta llegar ABT. El material deshidratado se infiltró en una mezcla de ABT y parafina en una estufa entre 58 y 60°C durante 30 días. Se efectuó la inclusión en parafina (Johansen 1940) y se realizaron cortes en un micrótomo de rotación a 24 micrómetros. Luego se aplicó una coloración diferencial con safranina-fast green (Roth 1964). En muchos casos se preparó la lámina sin coloración porque el material se dañaba durante el proceso. Se utilizó Entellan como medio de montaje. Se microfotografió la sección

transversal de la cubierta seminal de cada una de las especies estudiadas, empleando una cámara Nikon FX-35DX incorporada al microscopio.

Tabla 1. Lista de especies estudiadas del género *Passiflora* L.

| Especie | N° comprobante | Lugar de recolección | Herbario |
|------------------------------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|----------|
| <i>P. alata</i> Dryand. | Tillett, S. (1971) | Brasil | MYF |
| <i>P. edulis</i> Sims | Tillett, S. 681-6 | Hawai | MYF |
| <i>P. maliformis</i> L. | Meier, W. 8375 | Venezuela-Yaracuy | VEN |
| <i>P. laurifolia</i> L. | Tillett, S. 6810-145 | Venezuela-Andes | MYF |
| <i>P. nitida</i> Kunth | Foldats, E. 376-A | Venezuela-Amazonas | VEN |
| <i>P. pedata</i> L. var. <i>stipularis</i> (Killip) Killip | Delascio, F. y Gamarra, G. 17507 | Venezuela-Distrito Federal | VEN |
| <i>P. quadrangularis</i> L. | Tillett, S. 676-449 | Péru (del mercado) | MYF |
| <i>P. sp. nov. aff. P. tilifolia</i> L. | Tillett, S. 863-9 | Venezuela- Aragua Cultivada | MYF |

RESULTADOS

La cubierta seminal de las ocho especies estudiadas está constituida por un mínimo de tres y un máximo de cinco capas de células. Es de destacar la presencia de una capa de macroesclereidas con patrón de alargamiento radial sinuoso y una capa de células obliteradas en todas las especies estudiadas, éstas siempre están ubicadas como las dos capas más internas de la cubierta seminal, excepto en *P. edulis* que presenta una capa acelular más interna. En las descripciones no se indican estas dos capas nuevamente para evitar repeticiones.

P. alata Dryand., Bot. Mag. 1. 1781 ([Fig. 1](#)).

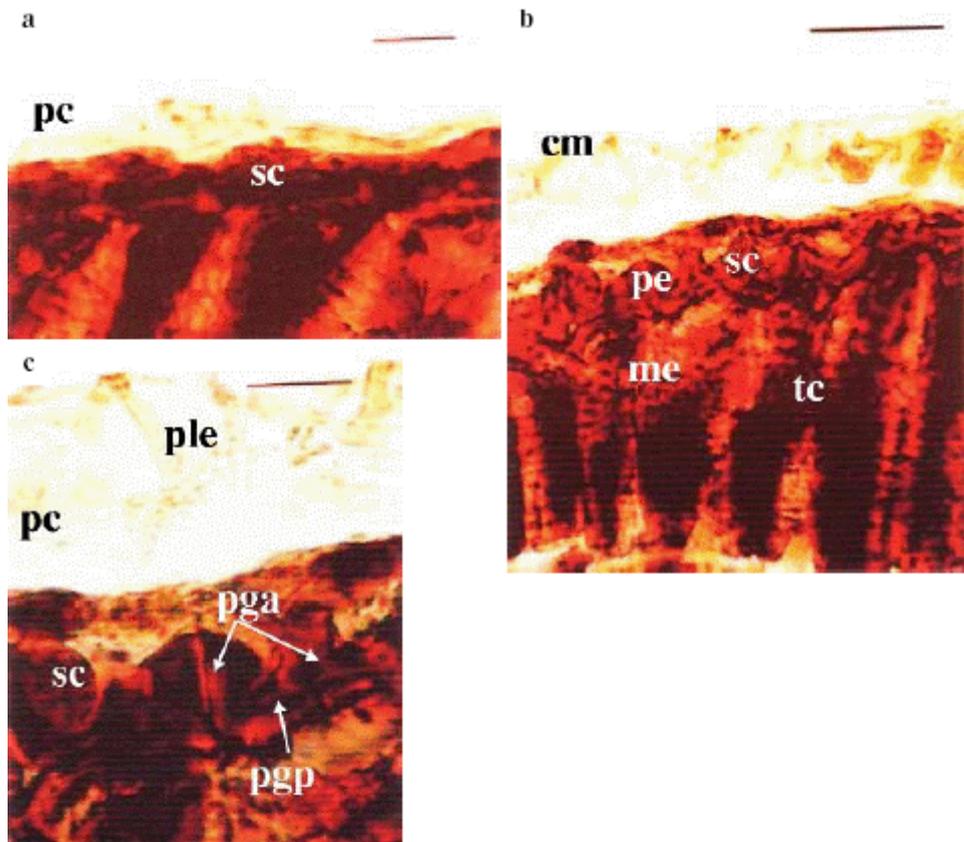


Fig. 1. Corte transversal de la cubierta seminal de *P. alata*. a. Primera capa (pc), segunda capa (sc). Escala = 16,6 μm . b. Primera capa multiplicativa (cm), segunda capa con células de paredes anticlinal y la periclinal engrosadas (pe) y las macroesclereidas (me) de la tercera capa. Escala = 50 μm . c. Células de la primera capa con paredes levemente engrosadas (ple), células de la segunda capa paredes anticlinales (pga) y periclinal interna (pgp) engrosadas. Escala = 16,6 μm .

Cubierta seminal de 512 (448-520) μm de grosor, constituida por cuatro capas de células. La primera capa es uniestrada, formada por células de pared levemente engrosada, estas células aumentan sus dimensiones en las zonas de valle de la cubierta seminal. En la segunda capa las paredes anticlinales y periclinal interna están engrosadas, confiriendo a la célula forma de "U".

Distribución en Venezuela: no reportada. Aún cuando es cultivada en varios sitios, sobre todo en los Andes.

P. edulis Sims, Bot. Mag. 45. 1818 ([Fig. 2](#)).

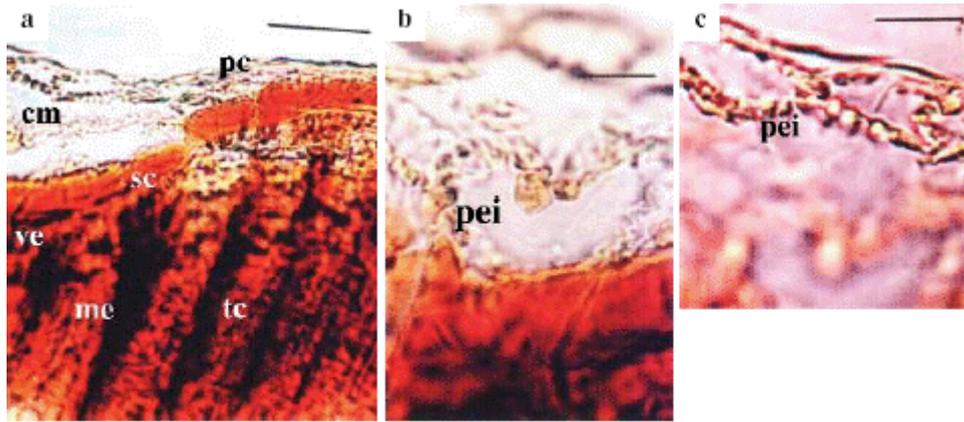


Fig. 2. Corte transversal de la cubierta seminal de *P. edulis*. a. Primera capa (pc) multiplicativa (cm) en las zonas de valle (ve), segunda capa (sc), tercera capa (tc) de macroesclereidas (me). Escala = 50 μ m. b. y c. Detalle de los engrosamientos irregulares (pei) de las paredes de las células de la primera capa. Escala = 16,6 μ m.

Cubierta seminal de 123 (90-130) μ m de grosor, constituida por cinco capas de células. La primera capa es multiplicativa, formada por células con pared irregularmente engrosada. Segunda capa con células de pared delgada y contenido celular aparente. La tercera capa está formada por macroesclereidas con patrón de alargamiento radial sinuoso. Cuarta capa de células obliteradas. Quinta capa acelular.

Distribución en Venezuela: Amazonas, Aragua, Bolívar, Delta Amacuro, Distrito Capital, Falcón, Lara, Mérida, Miranda, Monagas, Portuguesa, Trujillo, Yaracuy y Zulia. Probablemente cultivada en todos los estados del país.

P. maliformis L., Sp. Pl. 2: 956. 1753 ([Fig. 3](#)).

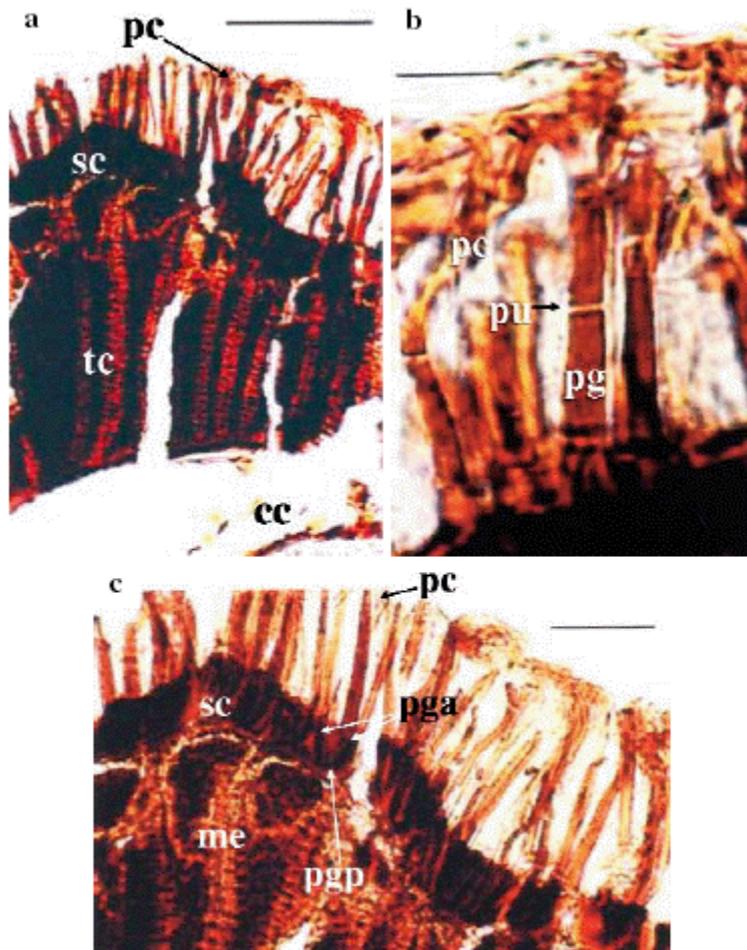


Fig. 3. Corte transversal de la cubierta seminal de *P. maliformis*. a. Primera capa (pc), segunda capa (sc), tercera capa (tc) y cuarta capa (cc). Escala = 100 μm . b. Detalle de las paredes gruesas (pg) y punteaduras (pu) de las células de primera capa. Escala = 16,6 μm . c. Paredes anticlinales (pga) y periclinal (pgp) interna engrosada, macroesclereidas (me). Escala = 50 μm .

Cubierta seminal de 267 (200-270) μm de grosor, constituida por cuatro capas de células. La primera capa es uniestrata, formada por células de pared engrosada, con abundantes punteaduras, eje principal en posición anticlinal, estas células aumentan sus dimensiones en las zonas de valle de la cubierta seminal. En la segunda capa las paredes anticlinales y periclinal interna están engrosadas, confiriendo a la célula forma de "U".

Distribución en Venezuela: Apure, Aragua, Carabobo, Distrito Capital, Miranda, Portuguesa, Táchira y Zulia. Cultivada en el país.

P. laurifolia L., Sp. Pl. 2: 956. 1753 ([Fig. 4](#)).

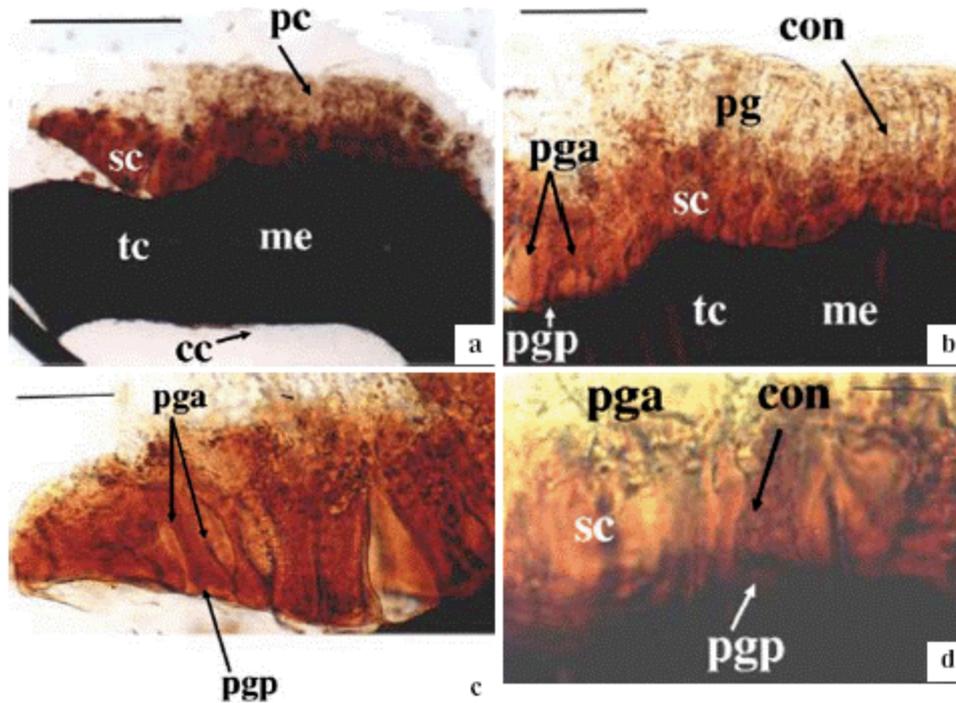


Fig. 4. Corte transversal de la cubierta seminal de *P. laurifolia*. a. Primera capa (pc), segunda capa (sc), tercera capa (tc) con macroesclereidas (me) y cuarta capa (cc). Escala = 250 μ m. b. Células de la primera capa con contenido celular (con) aparente y paredes levemente engrosadas (pg), células de la segunda capa con paredes anticlinales engrosadas (pga). Escala = 100 μ m. c. Detalle de las células de la segunda capa con paredes anticlinales (pga) y periclinal interna (pgp) engrosadas. Escala = 50 μ m. d. Detalle de las paredes de las células de la segunda capa, se observa contenido celular (con). Escala = 50 μ m.

Cubierta seminal de 407 (375-410) μ m de grosor, constituida por cuatro capas de células. La primera capa es uniestrada, formada por células de paredes levemente engrosadas, con contenido celular aparente. En la segunda capa las paredes anticlinales y periclinal interna están engrosadas, confiriendo a la célula forma de "U".

Distribución en Venezuela: Apure, Aragua, Carabobo, Distrito Capital, Miranda, Portuguesa, Táchira y Zulia.

P. nitida Kunth, Nov. Gen. Sp. (quarto ed.) 2: 130. 1817 ([Fig. 5](#)).

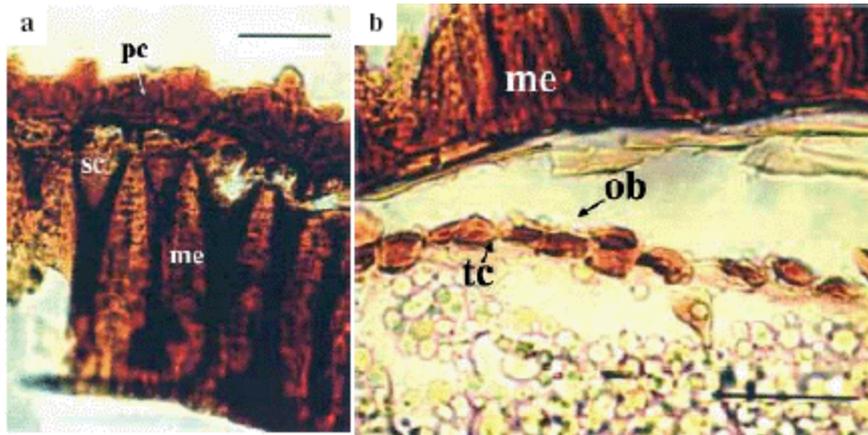


Fig. 5. Corte transversal de la cubierta seminal de *P. nitida*. a. Primera capa (pc) con células oscuras y segunda capa (sc) con macroesclereidas (me). Escala = 50 μ m. b. Macroesclereidas (me) de la segunda capa y detalle de la tercera capa (tc) de células obliteradas (ob). Escala = 50 μ m.

Cubierta seminal de 188 (170-200) μ m de grosor, constituida por tres capas de células. La primera capa es uniestrata, oscura, células con contenido celular aparente.

Distribución en Venezuela: Amazonas, Apure, Aragua, Falcón y Yaracuy.

***P. pedata* L. var. *stipularis* (Killip) Killip, Publ. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 19: 384. 1938. (Fig. 6).**

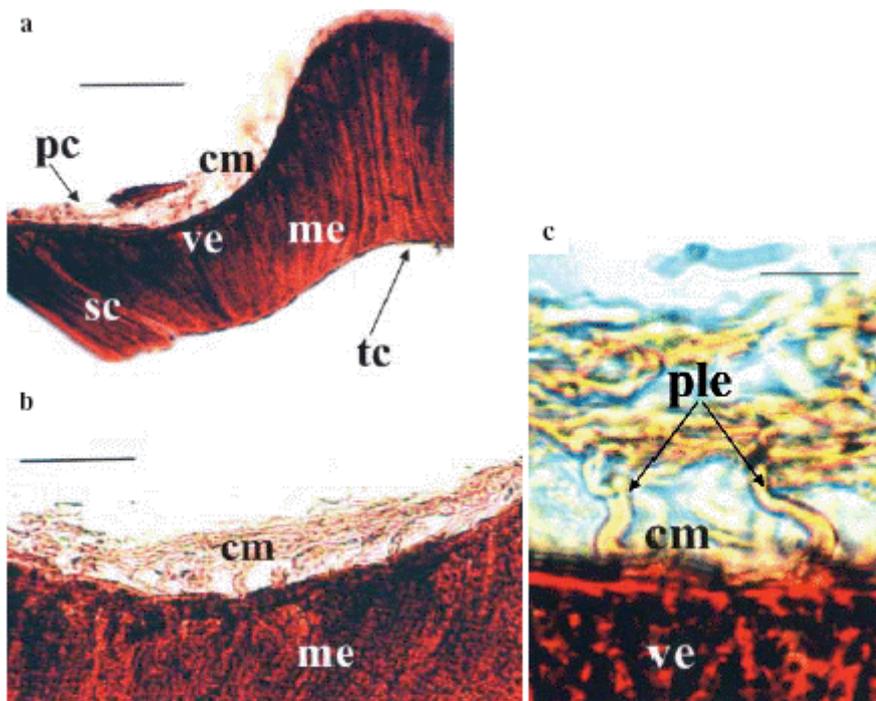


Fig. 6. Corte transversal de la cubierta seminal de *P. pedata*. a. Primera capa (pc) multiplicativa (cm) en la zona de valle (ve), segunda capa (sc) con macroesclereidas (me) y tercera etapa (tc). Escala = 100 μ m. b. Detalle de la capa multiplicativa (cm). Escala = 50 μ m. c. Células de la primera capa con paredes levemente engrosadas (ple). Escala = 16,6 μ m.

P. pedata subsp. *stipularis* Killip, J. Wash. Acad. Sci. 14: 114. 1924.

Cubierta seminal de 1060 (1035-1060) μm de grosor, constituida por tres capas de células. La primera capa es multiplicativa formada por células de pared levemente engrosada.

Distribución en Venezuela: Aragua, Bolívar, Cojedes, Distrito Capital, Miranda y Zulia.

P. quadrangularis L., Syst. Nat. 2: 1248. 1759 (Fig. 7).

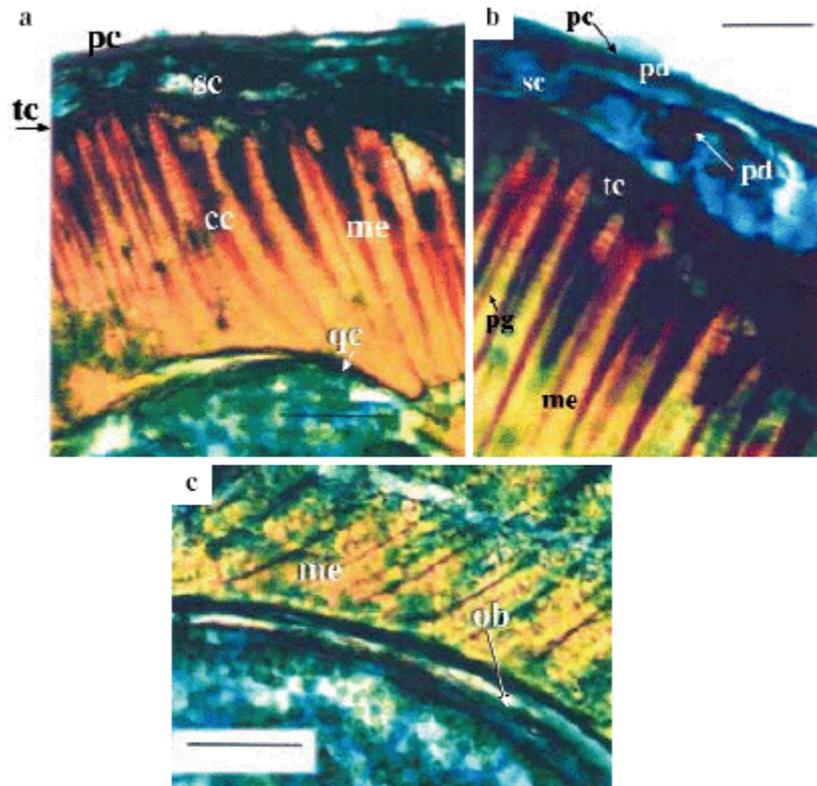


Fig. 7. Corte transversal de la cubierta seminal de *P. quadrangularis*. a. Primera capa (pc), segunda capa (sc), tercera capa (tc), cuarta capa (cc) y quinta capa (qc). Escala = 100 μm . b. Células de la primera y segunda capa con paredes delgadas, pared gruesa (pg) de las macroscleireidas (me) de la tercera capa. Escala = 50 μm . c. Macroscleireidas (me) y células obliteradas (ob) de la quinta capa. Escala = 50 μm .

Cubierta seminal de 260 (237-278) μm de grosor, constituida por cinco capas de células. La primera capa es multiplicativa formada por células de pared delgada. La segunda capa es oscura, células con contenido aparente. En la tercera capa las paredes anticlinales y periclinal interna están engrosadas, confiriendo a la célula forma de "U".

Distribución en Venezuela: Amazonas, Aragua, Bolívar, Delta Amacuro, Distrito Capital, Lara, Miranda, Nueva Esparta y Zulia.

Passiflora sp. nov. aff. ***tiliaefolia*** L., Sp. Pl. 958. 1753 (Fig. 8).

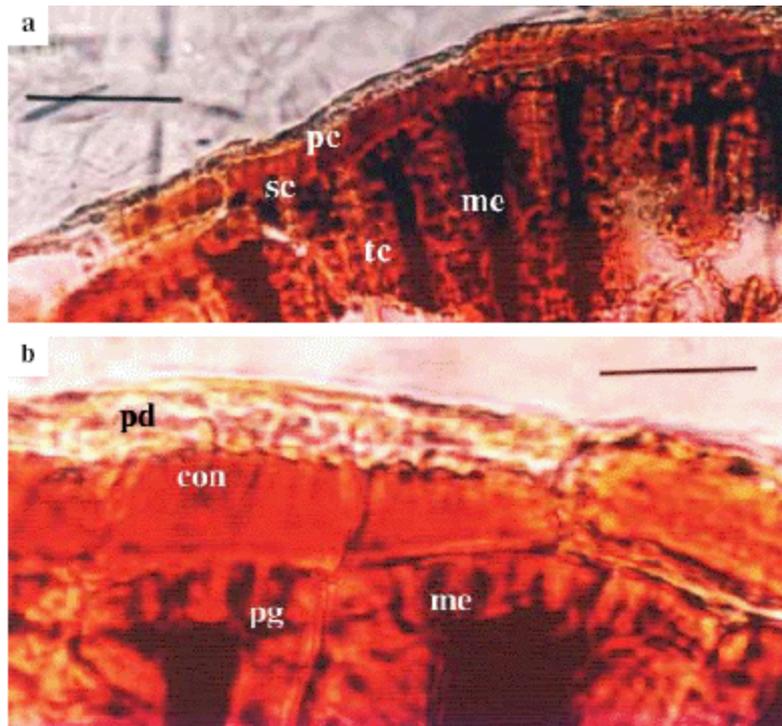


Fig. 8. Corte transversal de la cubierta seminal de *Passiflora* aff. *tiliaefolia*. a. Primera capa (pc), segunda capa (sc), tercera capa (tc) de macroesclereidas (me). Escala = 50 μ m. b. Detalles de las células de las tres primeras capas. Células de pared delgada (pd), células de contenido celular (con), células de pared gruesa (pg). Escala = 16,6 μ m.

Cubierta seminal de 332 (300-340) μ m de grosor, constituida por cuatro capas de células. La primera capa es multiplicativa, formada por células de pared delgada. La segunda está formada por células de pared delgada, con contenido aparente.

Distribución en Venezuela: Miranda y Carabobo.

DISCUSIÓN

La caracterización anatómica de la cubierta seminal en las especies estudiadas del género *Passiflora* ubicadas según Killip (1938) en el subgénero *Passiflora* y distribuidas en las series *Incarnatae* (*P. edulis*), *Laurifoliae* (*P. laurifolia*, *P. nitida*), *Pedatae* (*P. pedata*) y *Quadrangularis* (*P. alata*, *P. maliformis*, *P. quadrangularis*, *Passiflora* sp. nov. aff. *P. tiliaefolia*) revela que el patrón anatómico es específico para cada especie, y pone de manifiesto el gran valor taxonómico que tiene en este grupo. Esto concuerda con lo señalado por Raju (1955), Pérez-Cortéz *et al.* (1995, 2002) y Deginani (2001), quienes indican el valor diagnóstico de la semilla en especies de este género.

La variabilidad en el tipo de células (parenquimáticas, fibras, esclereidas, macroesclereidas, traqueidas), dimensiones, formas, grosor de la pared celular, tipo y abundancia de punteaduras, y tejidos involucrados en la estructura de la cubierta seminal de las angiospermas es muy amplia; para algunos taxa el patrón anatómico de la cubierta seminal es uniforme mientras que en otros es variable (Corner 1976; Johri 1984; Werker 1997).

La anatomía de la cubierta seminal en las especies del género *Passiflora* ha sido poco estudiada, en la literatura consultada sólo se encontró referencia a ésta en trabajos realizados con *P. calcarata*, *P. holosericea*, *P. edulis*, *P. quadrangularis* y *P.*

vitifolia, donde se señala que la cubierta seminal está constituida por una o dos capas externas de células transparentes, una capa media de macroesclereidas y una capa interna de células obliteradas (Raju 1955; Martín & Barkley 1973; Corner 1976; Salazar 1983; Pérez-Cortéz et al. 1995). Al comparar los caracteres indicados en la literatura con los patrones anatómicos encontrados en esta investigación se observa que la capa de macroesclereidas y la capa de células obliteradas están presentes siempre, lo que hace pensar que ambas capas podrían ser comunes a todas las especies del género; para comprobarlo se requiere estudiar la anatomía de un mayor número de especies y compararla con la anatomía de otros géneros de la familia Passifloraceae y de especies de otras familias relacionadas como, por ejemplo, Turneraceae y Cucurbitaceae. Raju (1955) describe la anatomía de la cubierta seminal de tres especies de la familia Passifloraceae, a saber, *Passiflora holosericea*, *P. calcarata* y *Adenia venenata*, y señala la presencia de la capa de macroesclereidas para las especies del género *Passiflora* y la ausencia de ésta en *A. venenata*. La presencia de la capa de macroesclereidas tanto en las especies estudiadas en esta investigación como en las especies señaladas en trabajos de la literatura consultada indican posible uniformidad en el ámbito de género.

Algunas características consideradas en este estudio como el número total de capas y el grosor de la cubierta seminal, sin ser de alto valor diagnóstico, en casos particulares logran segregar especies. Por ejemplo, el grosor de la cubierta seminal de *P. pedata* (1060 µm) es el mayor de todas las especies estudiadas y duplica en magnitud el grosor de la especie más próxima. Igualmente, la presencia de células con forma de "U" y el grosor de las paredes celulares de la primera capa de la cubierta seminal, son características contrastantes que ayudan a agrupar y a identificar las especies.

La primera capa de la cubierta seminal permite formar dos grupos: uno con capa multiplicativa y otro con capa uniestrada. La presencia de células con forma de "U" observadas en la segunda o tercera capa de células de la cubierta seminal separa también en dos grupos. Las especies de estos grupos están distribuidas, indistintamente, en las series del género *Passiflora* propuestas por Killip (1938), lo que evidencia que las características anatómicas estudiadas contribuyen ampliamente en la identificación de especies pero no explican sus relaciones infragenéricas. En conclusión se puede señalar que la combinación de cada una de las capas que constituyen la cubierta seminal dan como resultado patrones anatómicos particulares para cada especie.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dra. Omaira Hokche por las observaciones realizadas, y por el financiamiento de esta investigación al Postgrado en Botánica de la Facultad de Ciencias, de la Universidad Central de Venezuela, al CONICIT y al proyecto CDCH # 03025.96.

BIBLIOGRAFÍA

1. Buth, G.M., A. Roshan & A. Narayan. 1987. Seed and seed coat anatomy of some members of tribe Arabideae (Brassicaceae). *Phytomorphology* 37(4): 341-348.
2. Chuang, T.I. & C. Lincoln. 1992. Seeds and systematics in Hydrophyllaceae: Tribe Hydrophyllaeae. *Amer. J. Bot.* 79(3): 257-264.
3. Corner, E.J.H. 1976. *The seeds of Dicotyledons*. Vol. I y Vol. II Cambridge University Press.

4. Corral, R., F. Pérez-García & J.M. Pita. 1989. Seed morphology and histology in four species of *Cistus* L. (Cistaceae). *Phytomorphology* 39(1): 75-80.
5. Deginani, N.B. 2001. Las especies argentinas del género *Passiflora* (Passifloraceae). *Darwiniana* 39(1-2): 43-129.
6. Escala, M. 1983. Desarrollo ontogenético del ala de las semillas de las especies del género *Luehea* Willd. en Venezuela. Estudio morfoanatómico de semillas de las distintas especies nativas del género *Clethra* L. Trabajo de Ascenso. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. Caracas. Venezuela.
7. Escala, M. 1994. Estudio morfoanatómico de frutos y semillas de leguminosas de los altos Llanos Centrales de Venezuela (Estación Biológica de los Llanos de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales). *Bol. Soc. Ci. Nat. La Salle* 148: 260-316.
8. Haridasan, V.K. & P.K. Mukherjee. 1988. Seed surface features of some members of the Indian Campanulaceae. *Phytomorphology* 37(4): 277-285.
9. Jha, S.S. & A.K. Pandey. 1989. Seed coat structure in *Melilotus* (Fabaceae) *Phytomorphology* 39(2, 3): 221-229.
10. Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. Mc Graw-Hill Book Company, New York, London.
11. Johri, B.M. 1984. *Embryology of angiosperms*. Springer-Verlag.
12. Kaur, H. & A. Pal. 1989. Structure, anatomy and spermoderm pattern seeds in some *Vicia* species (Papilionoideae). *Phytomorphology* 39(4): 363-370.
13. Killip, E.P. 1938. The American species of Passifloraceae. *Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser.* 19(1 y 2): 1-613.
14. Lindorf, H., L. de Parisca & P. Rodríguez. 1985. *Botánica: Clasificación, estructura y reproducción*. Ediciones de la Biblioteca UCV. Caracas. Venezuela.
15. Martin, A.C. & W. Barkley. 1973. *Seed identification manual*. University of California Press. Berkeley. Los Angeles and London.
16. Netolitzky, F. 1926. Anatomía der Angiospermen Samen. *Handbuch der Pflanzenanatomie*. Bd. 10. Borntraeger. Berlín.
17. Pérez-Cortéz, S., M. Escala, S. Tillett & C. Sánchez. 1995. Estudio morfoanatómico de la cubierta seminal de *Passiflora quadrangularis* L. (Passifloraceae). *Anales Bot. Agric.* 2: 25-29.
18. Pérez-Cortéz, S., S. Tillett & M. Escala. 2002. Estudio morfológico de la semilla de 51 especies del género *Passiflora* L. *Acta Bot. Venez.* 25(1): 67-96.
19. Raju, M.V.S. 1955. Embryology of the Passifloraceae. I. Gametogenesis and seed development of *Passiflora calcarata* Mast. *Indian Bot. Soc.* 35(1): 126-138.
20. Rodríguez, P. 1976. Estudio sobre los frutos carnosos y sus semillas en las Rubiaceae de Venezuela. *Acta Bot. Venez.* 11(1-4): 283-383.

21. Roth, I. 1964. *Microtecnia Vegetal*. Ediciones de la Biblioteca UCV. Caracas. Venezuela.
22. Salazar, L. 1983. Morfología y anatomía de frutos y semillas de un bosque húmedo del Territorio Federal Amazonas, alrededor del Río Cataniapo (Departamento de Atures). Trabajo Especial de Grado. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela.
23. Small, E., B. Brookes & Per Lassen. 1990. Circumscription of genus *Medicago* (Leguminosae) by seeds characters. *Canad. J. Bot.* 68: 613-629.
24. Werker, E. 1997. *Seed anatomy*. Encyclopedia of plant anatomy. Tomo X, 3. Gebrüder Borntraeger, Berlín.