

M. LOSADA y G. GIMENEZ

ESTUDIO CITOLOGICO DE LA EPIDERMIS
DEL BULBO DE UNA VARIEDAD
HEXAPLOIDE DE "SCILLA MARITIMA" L.



PUBLICADO EN
ANALES DE EDAFOLOGIA Y FISILOGIA VEGETAL
Tomo XVI, núms. 7-8.—MADRID, 1957

ESTUDIO CITOLOGICO DE LA EPIDERMIS DEL BULBO DE UNA VARIEDAD HEXAPLOIDE DE *SCILLA MARITIMA* L.

por

M. LOSADA y G. GIMENEZ

Las investigaciones realizadas por Perner (1952 a, b, 1953), Drawert (1952, 1953), Sorokin (1955), Perner y Losada (1956), etcétera, permiten distinguir tres categorías de orgánulos citoplásmicos en las células de las plantas superiores: a) Microsomas o, siguiendo a Dangeard (1919), Esferosomas; b) Codriosomas, y c) Plastidios.

Perner afirma que los esferosomas son estructuras citoplásmicas permanentes y reales y no gotas de reserva temporal de grasa u otro lipoides como sostiene otros autores (granulaciones lipídicas de Guilliermond, 1933).

Los trabajos realizados durante los últimos años han demostrado que existen, ya incluso en los meristemas, diferencias fundamentales entre plastidios y condriosomas.

Según Schimper (1885) los plastidios de las plantas superiores se originan de los proplastidios o plastidios embrionales de las células meristemáticas. Estos proplastidios se diferencian entonces en los tejidos somáticos para dar lugar a cloroplastos, cromoplastos y leucoplastos, que se distinguen entre sí no sólo por su contenido en pigmentos, sino por su morfología y fisiología.

Las investigaciones llevadas a cabo por Strugger (1950, 1951, 1953, 1954) en las células meristemáticas de hojas y conos vegetativos de *Chlorophytum comosum*, *Agapanthus umbellatus*, etc., han

demostrado que los proplastidios constan siempre de un estroma ameboides en el que se encuentra incluido un *primer granum* discoidal (coloreable por colorantes básicos y lipófilos), en tanto que los condriosomas se presentan siempre homogéneos. Strugger sostiene que los «grana» de los cloroplastos proceden del primer granum de los proplastidios, y considera al granum-plasma y al estromaplasma como componentes plasmáticos permanentes de los plastidios. La teoría de la continuidad de los plastidios de Schimper queda, pues, plenamente confirmada por los trabajos de Strugger, que rechazan en cambio la teoría del origen condriosomal de los mismos, defendida, entre otros, por Guilliermond (1933) y Alvarado (1923 a, b).

Los estudios efectuados por Heitz y Maly (1953) en *Agapanthus umbellatus*, *Dracaena draco* y *D. deremensis*, utilizando los microscopios de campo claro y fluorescencia, llevan a estos autores a la conclusión de que sólo el estroma y la membrana existen en cualquier estado de desarrollo de los plastidios, por lo que no puede considerarse al *primer granum* como estructura con continuidad genética. Sin embargo, Strugger (1953, 1954) ha discutido y rechazado esta conclusión, afirmando la existencia indudable del *primer granum* en los proplastidios. También Leyon (1954) ha encontrado, utilizando el microscopio electrónico, un gránulo central en los proplastidios de *Aspidistra*.

Si, de acuerdo con Strugger, los proplastidios constan de estroma y granum, es de esperar que estos elementos estructurales persistan en los leucoplastos, si durante la diferenciación somática se conserva el granum. Heitz y Maly (1953) parecen en principio rechazar esta idea, pues afirman que en los leucoplastos de epidermis de *Agapanthus* no pudieron encontrar ningún primer granum selectivamente coloreable con rodamina B. Por el contrario, Perner (1954) demuestra la presencia constante de un granum en los leucoplastos de las células epidérmicas del bulbo de *Allium cepa* y de los pelos estaminales de *Tradescantia virginica*. Drawert (1954), utilizando el mismo objeto de estudio, y coloración vital con azul celestina, encuentra junto a leucoplastos con «gránulos» fuertemente coloreados otros sin ninguna clase de inclusiones, por lo que considera esos gránulos como producto de

formación reversible, y no como primarios grana en el sentido de Strugger. Bartels (1955) ha observado en las raíces de *Vicia faba*, *Iris germánica* y *Begonia undulata*, leucoplastos poligranulares y ha podido seguir su desarrollo a partir de los proplastidios unigranulares de los meristemos apicales de la raíz. Strugger y Losada (1956) han investigado los plastidios en las zonas albas de hojas mediovariegadas de *Chlorophytum comosum*, y demostrado que en las zonas medias se presentan como orgánulos ameboides, a menudo vacuolizados, que contienen en su estroma un granum discoidal donde se localiza la clorofila; hacia la base de las hojas los plastidios están algo más desarrollados, y son poligranulares, aunque nunca alcanzan el alto grado de diferenciación de los leucoplastos normales. Perner y Losada (1956) encontraron que los leucoplastos ameboides de los pelos radicales de *Trianea bogotensis* contienen un granum, o más raramente dos, en posición paralela. Kaja (1956), estudiando las células epidérmicas de las hojas de *Chlorophytum comosum*, observó que los leucoplastos contenían siempre al menos un granum, y además siguió su desarrollo a partir de los proplastidios unigranulares de las células iniciales del dermatógeno.

En este trabajo, realizado en células epidérmicas de bulbos de *Scilla maritima* L., utilizando material vivo, y paralelamente material fijado y teñido, se usó para la investigación en campo claro el microscopio binocular de Leitz (Apo. Oel A 1,32 90:1), y para la investigación en contraste de fases el de Zeiss-Winkel (Ph. 2, A 0,65, 40:1; y Ph. 3, A 1,30, 100:1).

Los bulbos se recogieron a fines de diciembre en las cercanías de Sevilla, y se tomaron sus hojas medias para obtener con una navaja de afeitar cortes tangenciales de las epidermis superiores. Dichos cortes, colocados en agua corriente, se infiltraron entonces con la trompa de vacío para eliminar el aire de los intercelulares (véase Strugger, 1949). En los bulbos de *Scilla* las epidermis son tan finas y están tan adheridas a las células del mesófilo, que es muy difícil obtenerlas sin lesionarlas por levantamiento, usando la técnica que con tan buenos resultados se sigue para las de *Allium cepa* (Strugger, 1949).

El estudio cariológico de la *Scilla maritima* investigada se

llevó a cabo en los meristemos radicales, siguiendo la técnica de J. H. Tjio (1950). La microfoto 1 corresponde a una metafase ($2n = 60$). Se trata pues de una variedad hexaploide, ya que el número básico es $x = 10$.

ESTUDIO EN CÉLULAS VIVAS

Colocados los cortes con las epidermis hacia arriba, se procedió a un minucioso examen microscópico de las células epidérmicas, utilizando para ello los microscopios de campo claro y contraste de fases.

El núcleo siempre inmóvil y de forma lenticular aparece en posición de frente o de perfil, según se sitúe en las paredes periclina o anticlina. Aloja en su fino retículo varios nucleolos, y sólo en rarísimos casos muestra las hendiduras tan frecuentes en los núcleos de cebolla.

En la capa superior de citoplasma se distinguen fácilmente los esferosomas, que se diferencian muy bien de condriosomas y leucoplastos por su tamaño, elevado contraste y movilidad. Aparecen como pequeñas esferas de tamaño relativamente constante: su diámetro medio puede, sin embargo, oscilar según el material utilizado, pues nosotros hemos examinado bulbos en cuyas células era de $0,5 \mu$, mientras que en otros se elevaba a $0,8 \mu$. Como consecuencia de su elevado índice de refracción, se les observa perfectamente en campo claro, destacando como negras bolitas sobre la masa fundamental de citoplasma cuando se les estudia con el microscopio de fases. El número de esferosomas existentes en cada célula varía mucho de unos casos a otros, siendo a veces muy alto y otras muy reducido. Nosotros hemos encontrado células en las que los esferosomas faltaban totalmente, lo que parece indicar que ni son esenciales para la vida, ni se les puede considerar como corpúsculos citoplásmicos permanentes de las células vegetales, aunque se presenten en ellas en la inmensa mayoría de los casos.

En el citoplasma aparecen además de los esferosomas, y mucho menos contrastados que ellos, condriosomas y leucoplastos.

Los condriosomas se mueven también con la corriente plasmática, pero más lentamente que los esferosomas. Son homogéneos y no ameboides, con aspecto de varillas flexibles de longitud variable y anchura hacia $0,5 \mu$.

Especial interés merecen los leucoplastos caracterizados principalmente por ser ameboides, estar a menudo vacuolizados, y presentar incluidos en su estroma un granum más o menos ovoideo (raras veces, dos). Son los mayores orgánulos citoplásmicos y presentan formas más o menos redondeadas o alargadas; cuando filiformes son extraordinariamente largos (hasta 8μ). El granum de $0,5-1 \mu$ se presenta a veces, incluso en el microscopio de campo claro, fuertemente contrastado, por lo que destaca nitidamente del estroma, mientras que otras es difícilmente visible o prácticamente invisible. Nosotros pensamos, puesto que hemos observado preparaciones vivas en las que todos los leucoplastos de todas las células contenían un granum fuertemente visible, y otras en las que dicho granum era poco o nada visible, que no son principalmente las diferentes condiciones técnicas (grosor de la capa plasmática o de las células epidérmicas, número de capas celulares yacentes bajo la epidermis, etc.), quienes motivan, como consecuencia de una variación del óptimo de contraste, la mejor o peor visión del granum, sino más bien que son los cambios de las características físicas o fisicoquímicas de éste, o de éste y el estroma simultáneamente, los que determinan que se distinga fácil o difícilmente.

Aunque, como ya se dijo en la Introducción, en las células de las plantas superiores estudiadas se citan tres clases de orgánulos característicos (Plastidios, Condriosomas y Esferosomas), nosotros hemos de indicar que en las células epidérmicas de los bulbos de *Scilla maritima* hexaploide examinados aparece un nuevo tipo de orgánulo, no siempre visible sin dificultad, distinto por sus características de tamaño, forma, contraste y movilidad de los demás corpúsculos citoplásmicos. Se trata de unos orgánulos esféricos pequeñísimos (su diámetro de $0,2-0,3 \mu$ les sitúa en el límite de la visibilidad microscópica), que se mueven a extraordinaria velocidad, con más rapidez, incluso que los esferosomas. Su contraste inferior al de los esferosomas permite, sin embargo, distinguirlos con claridad suficiente aun en el microscopio de campo claro,

donde aparecen con color gris de acero. A menudo se ponen en contacto con esferosomas y entonces se hacen particularmente patentes las diferencias de contraste y tamaño que les separan de ellos. Podría, quizá, tratarse de pequeñísimos condriosomas, pero su mayor contraste y su gran movilidad nos hacen pensar que puedan ser nuevos corpúsculos (¿submicrosomias?). Estudios comparativos realizados en células epidérmicas de bulbos de *Allium cepa* nos han demostrado que en dichas células no existen estos orgánulos, o al menos no son visibles.

ESTUDIO EN CÉLULAS FIJADAS

La fijación con vapores de ácido ósmico nos ha suministrado excelentes resultados. Los cortes, después de fijados y lavados en agua corriente, se tiñeron con azul de toluidina y se lavaron de nuevo.

La observación microscópica de los cortes fijados y teñidos nos ha conducido a las mismas conclusiones logradas por examen del material vivo.

Los esferosomas aparecen muy ennegrecidos por su acción reductora sobre el $Os O_4$. En las fotos 2 y 3 se ve fácilmente, junto a uno de ellos (E), un corpúsculo (X) de las características anteriormente citadas, teñido débilmente de azul en el mismo tono que los condriosomas (C). Las diferencias fisicoquímicas existentes entre los esferosomas y los corpúsculos a que nos venimos refiriendo permiten considerarlos como orgánulos distintos. Si estos corpúsculos son además distintos de los condriosomas, no puede asegurarse hasta tanto no se efectúen pruebas diferenciales que lo decidan.

Los leucoplastos (L) aparecen fielmente fijados y con el estroma azulado, en el que destaca el granum intensamente teñido en azul oscuro (véase fotos). El colorante queda tan fuertemente fijado por el granum como por los nucleolos, y permanece al pasar los cortes por la serie de alcoholes y xilol a bálamo, proceso durante el cual desaparecen los esferosomas. El carácter lipídico del gra-

num de los leucoplastos queda demostrado al colorear con Sudán III cortes fijados con Os O₄. El granum aparece entonces teñido de rojo (color que toman también los esferosomas).

INCLUSIONES EN LAS CÉLULAS EPIDÉRMICAS

Creemos interesante señalar la presencia de unas inclusiones muy particulares en las células epidérmicas de algunas de las preparaciones examinadas. Sólo en algunos de los bulbos investigados pudimos encontrarlas, mejor dicho, sólo en algunas de las preparaciones obtenidas de ellos. Las inclusiones aparecieron sólo en cortes que habían sido fijados con Os O₄; en vivo no las hemos observado. Esto no quiere decir que sea el ácido ósmico el causante de su formación (aunque bien pudieran ser él u otros los agentes responsables de la separación de estos productos de inclusión al motivar la alteración de un equilibrio fisicoquímico), pues preparaciones obtenidas de las mismas hojas, después de fijadas con ácido ósmico, se comportaron de modo distinto, presentando unas inclusiones y otras no. Tampoco el que las células vivas examinadas no contuvieran inclusiones, excluye el que otras puedan tenerlas.

Los cuerpos de inclusión toman coloración intensa con el azul de toluidina. El colorante queda fijado fuertemente y permanece aun después de pasar los cortes por la serie de alcoholes; la intensidad de color es sólo comparable a la que presentan los nucleolos y el granum de los leucoplastos. (Las inclusiones se colorean, igualmente, en rojo con floxina, y también, aunque más débilmente, con orceína y fucsina).

Muy interesante son la forma y el aspecto de los cuerpos de inclusión. Las fotos obtenidas indican claramente cómo llegan a formarse inclusiones de aspecto de cristales a partir de otras granuladas más o menos compactas. La formación de los cristales, que aparecen en la proporción de uno por célula, puede seguirse fácilmente en células vecinas, pues a inclusiones granuladas flojas suceden otras más compactas y a éstas, finalmente, los cristales. Estos cristales, fijados y teñidos (pues como dijimos, en

vivo no fueron observados), no mostraron birrefringencia al ser examinados con el microscopio de polarización. Las inclusiones llenan a veces toda la célula y otras sólo parte, situándose cerca del núcleo o lejos de él. En otros casos aparecen en la células, dispersas o en rosario, esferas granulosas más o menos grandes y abundantes, que se van apiñando en células siguientes para formar cuerpos más compactos y de contornos rígidos, con aspecto entonces casi de cristales. Las células subepidérmicas situadas inmediatamente debajo de epidermis con inclusiones, aparecen libres de éstas (véanse fotos).

Las inclusiones parecen originarse en la vacuola. En las células que las presentan, la configuración del núcleo, así como la de los leucoplastos y demás orgánulos citoplásmicos, es completamente normal. Nosotros pensamos que estos cuerpos de inclusión, que parecen ser idénticos a los «Zellinhaltkörper» descritos en la literatura alemana bajo la denominación de «plastidenähnlichen Gebilden» (Küster, 1951), no tienen que ver con los plastidios. Aunque según nuestra opinión se trata de productos (proteicos?) de separación originados en las vacuolas, hemos realizado, sin embargo, pruebas de virus (hasta ahora con resultados negativos) infectando mecánicamente por medio de carburo de hojas de *Allium cepa* con extractos obtenidos de escamas de bulbos de *Scilla* que presentaban inclusiones.

INSTITUTO DE EDAFOLOGÍA Y FISIOLOGÍA VEGETAL

RESUMEN

En las células vivas de la epidermis superior de hojas de bulbos de una variedad hexaploide de *Scilla maritima* L. se observan, tanto con el microscopio de campo claro como con el de contraste de fases, los orgánulos citoplásmicos característicos de las células de plantas superiores, a saber: Plastidios (Leucoplastos), Condriomas y Esferomas (estos, sin embargo, excepcionalmente, pueden faltar). En las citadas células aparecen además unos orgánulos, que por sus características de forma, tamaño (esferitas de 0,2-0,3 μ), contraste y movilidad, bien pudieran ser nuevos corpúsculos, distintos de esferomas y condriomas.

Los leucoplastos, ameboides y frecuentemente vacuolizados, presentan en vivo un granum (raras veces, dos), incluido en el estroma. La existencia de

este granum, de carácter lipídico-proteico, queda asegurada por investigaciones realizadas en material fijado y teñido.

En las células epidérmicas de algunas de las preparaciones, que se fijaron con OsO_4 , aparecen unas inclusiones muy típicas. En las examinadas en vivo no han sido encontradas. Las fotos obtenidas indican claramente cómo llegan a formarse inclusiones de aspecto de cristales, uno por célula, a partir de otras granulosas más o menos compactas, que ocupan toda la célula o sólo parte de ella, situándose cerca o lejos del núcleo. A veces, en los primeros estadios, se observan, dispersas en las células o en rosario, esferas granulosas más o menos grandes y abundantes, que se agrupan para formar cuerpos más compactos de contornos rígidos. Según nuestra opinión, las inclusiones son productos (proteicos?) de separación, originados en la vacuola por la alteración de un equilibrio fisicoquímico.

SUMMARY

In the living cells of the upper bulbs' leaves epidermis of a hexaploid variety of *Scilla maritima* L. the cytoplasmic organs characteristic of higher plants as: plastidia (leucoplasts), condriosomes and spherosomes (the latter though, can be missing, exceptionally) can be observed by means of the light field as well as the phase contrast microscopes. In these cells we have also observed some granules which by their characteristics of shape, size (small spheres of $0.2-0.3 \mu$) contrast and mobility, could very well be corpuseles net yet described different from spherosomes and condriosomes.

The leucoplasts, amoeboid and frequently vacuolized, have, in the living state, a granum (rarely two) included in the stroma. The existence of this granum, of a lipidic proteic nature, has been duly confirmed by investigations carried out on material fixed and dyed.

In the epidemic cells of some of the preparations, which were fixed with OsO_4 very typical inclusions appear. They were not found in the living state. The photographs taken, show clearly how crystal-like inclusions are formed, one in every cellule from more or less compact granulations, which fill the whole cell or only part of it, being situated near or far from the nucleus. Sometimes, can be observed, in the first phases, some granular spheres, of different sizes disperse in the cells, or in groups which become more compact bodies with rigid outlines. In our opinion, the inclusions are proteic products of separation, formed in the vacuole by the alteration of a physicochemical equilibrium.

BIBLIOGRAFÍA

- ALVARADO, S. 1923 a. Die Entstehung der Plastiden aus Chondriosomen in den Faraphysen von *Mnium cuspidatum*. Ber. Dt. Bot. Ges., 41, 85.
 ALVARADO, S. 1923 b. El origen de los Cloroplastos en las hojas de *Cicer arietinum*. Trabajos del Museo Nacional de Ciencias Naturales. Serie Botánica, número 17.

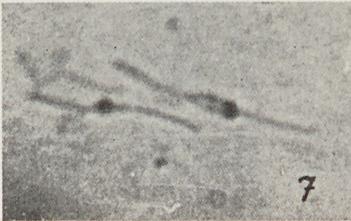
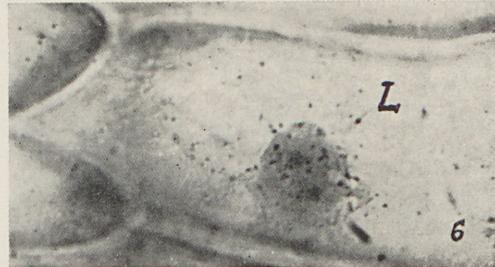
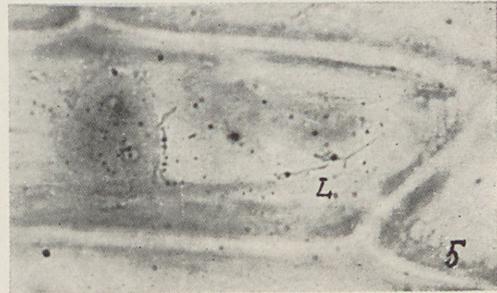
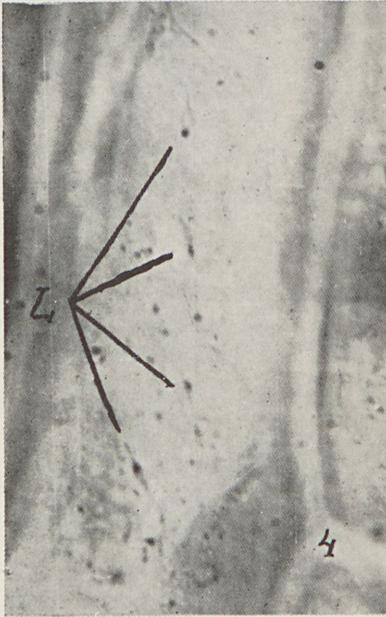
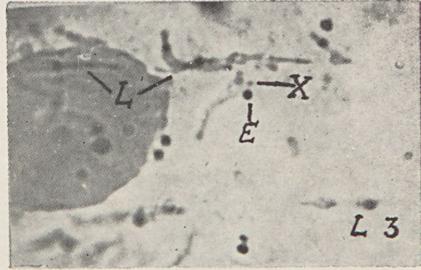
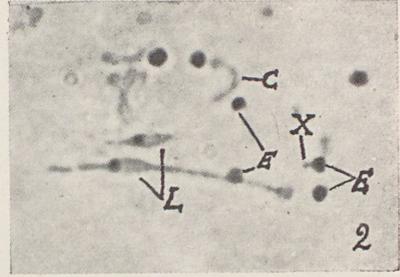
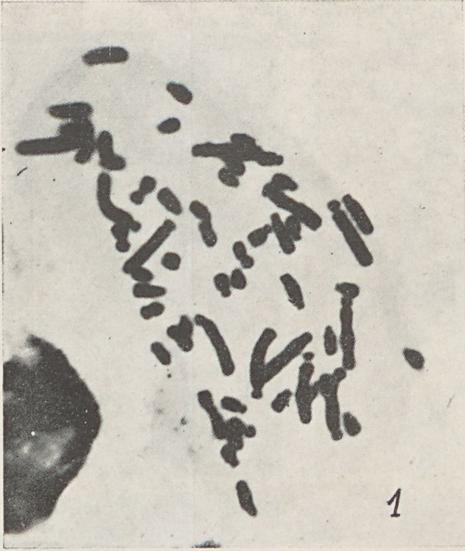
- BARTELS, F. 1955. Cytologische Studien an Leukoplasten unterirdischer Pflanzenorgane. *Planta*, 45, 426.
- DANGEARD, P. A. 1919. Sur la distinction du chondriome des auteurs en vacuome, plastidome et spherome. *C. R. Ac. Sc.*
- DRAWERT, H. 1952. Vitale Fluorochromierung der Mikrosomen mit Nilblausulfat. *Ber. Dt. Bot. Ges.*, 65, 263.
- DRAWERT, H. 1953. Vitale Fluorochromierung der Mikrosomen mit Janusgrün, Nilblausulfat und Berberinsulfat. *Ber. Dt. Bot. Ges.*, 66, 134.
- DRAWERT, H. 1954. Vitalfärbung der Plastiden von *Allium cepa* mit Coelestinblau. *Ber. Dt. Bot. Ges.*, 67, 33.
- GUILLIERMOND, A., G. MANGENOT et L. PLANTEFOL. 1933. *Traité de cytologie végétale*. Paris (Le François).
- HEITZ, E. und R. MALY. 1953. Zur Frage der Herkunft der Granen. *Z. Naturf.* 8 b, 243.
- KAJA, H. 1956. Untersuchungen über Struktur und Entwicklung der Leukoplasten. *Protoplasma*, 47, 280.
- KÜSTER, E. 1951. *Die Pflanzenzelle*. 2. Aufl., Jena.
- LEYON, H. 1954. The Structure of Chloroplasts. IV. The Development and Structure of the Aspidistra Chloroplast. *Exper. Cell. Res.*, 7, 265.
- PERNER, E. S. 1952 a. Zellphysiologische und cytologische Untersuchungen über den Nachweis und die Lokalisation der Cytochrom-Oxydase in *Allium-Epidermis*-Zellen. *Biol. Zbl.*, 71, 43.
- PERNER, E. S. 1952 b. Die Vitalfärbung mit Berberinsulfat und ihre physiologische Wirkung auf Zellen höherer Pflanzen. *Ber. Dt. Bot. Ges.*, 65, 51.
- PERNER, E. S. 1953. Die Sphärosomen (Mikrosomen) pflanzlicher Zellen. *Protoplasma*, 42, 457.
- PERNER, E. S. 1954. Zum mikroskopischen Nachweis des «primären Granums» in den Leukoplasten. *Ber. Dt. Bot. Ges.*, 67, 25.
- PERNER, E. S. und M. LOSADA. 1956. Die Zellorganelle der Wurzelhaare von *Trianea bogotensis*. *Protoplasma*, 46, 579.
- SCHIMPER, A. F. W. 1885. Untersuchungen über Chlorophyllkörner und die ihnen homologen Gebilde. *Jb. wiss. Bot.*, 16, 1.
- SOROKIN, H. 1955. Mitochondria and Spherosomes in the living epidermal cell. *Amer. Journal of Bot.*, 42, 225.
- STRUGGER, S. 1949. *Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze*. 2. Aufl. Heidelberg.
- STRUGGER, S. 1950. Über den Bau der Proplastiden und Chloroplasten. *Naturw.* 37, 166.
- STRUGGER, S. 1951. Die Strukturordnung in Chloroplasten. *Ber. Dt. Bot. Ges.* 64, 69.
- STRUGGER, S. 1953. Über die Struktur der Proplastiden. *Ber. Dt. Bot. Ges.* 66, 439.

- STRUGGER, S. 1954. Die Proplastiden in den jungen Blättern von *Agapanthus umbellatus* L'Herit. *Protoplasma*, 43, 120.
- STRUGGER, S. und M. LOSADA. 1956. Die Plastiden in den albicaten Geweben der Blätter einer mediovariegaten Form von *Chlorophytum comosum*. *Protoplasma*, 45, 540.
- TJIO, J. H. and A. LEVAN. 1950. The use of oxiquinoline in chromosome analysis. *Anales de la Estación Experimental de Aula Dei*, 2, 21.

L A M I N A 1

Microfotos en campo claro con objetivo de inmersión.

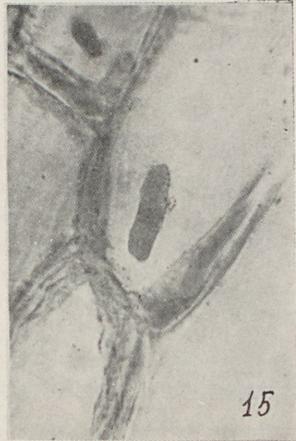
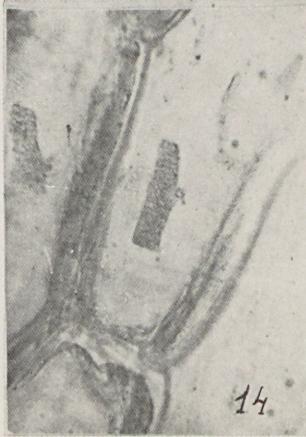
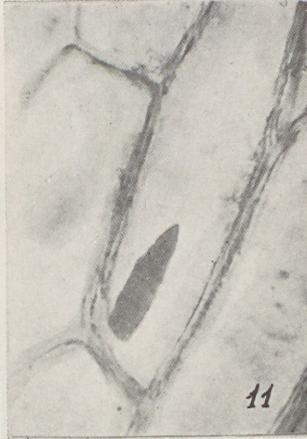
Foto 1.—Metafase en una célula meristemática de la raíz de *Scilla maritima* hexaploide mostrando los 60 cromosomas. Fotos 2 y 3.—Capas citoplásmicas de células epidérmicas de *Scilla*, fijadas con Os O₄ y teñidas con azul de toluidina, con esferosomas (E), condriosomas (C), leucoplastos monogranulares (L) y los corpúsculos, señalados con X, descritos en el texto. Fotos 4, 5 y 6.—Células epidérmicas en las que son visibles los leucoplastos (L) ameboides y a menudo vacuolizados, incluyendo cada uno su correspondiente granum (fijación con Os O₄ y tinción con azul de toluidina). Fotos 7, 8 y 9.—Leucoplastos de las células epidérmicas con las características anteriormente citadas. El granum de forma más o menos redondeada o alargada se distingue perfectamente en cada uno de ellos. (Fijación y coloración como en las anteriores.)



L A M I N A 11

Microfotos en campo claro con objetivo de inmersión; fijación con ácido ósmico y tinción con azul de toluidina.

Fotos 10, 11 y 12.—Células epidérmicas de *Scilla*, mostrando cada una de ellas una inclusión de aspecto de cristal fuertemente teñida por el azul de toluidina. Fotos 13, 14 y 15.—Células con inclusiones granulosas compactas en grado creciente (estadio anterior a la formación de cristales). Fotos 16, 17 y 18.—Células epidérmicas vecinas señalando claramente el proceso de formación de los cristales.



L A M I N A 111

Microfotos en campo claro.

Fotos 19, 20 y 21. Células epidérmicas de *Scilla* con inclusiones correspondientes a los estadios granulosos flojos, compactos y de cristales (fijación con ácido ósmico y coloración con azul de toluidina; objetivo 24:1). Foto 22.—Células epidérmicas conteniendo inclusiones de aspecto de cristal (fijación y coloración como las anteriores; objetivo 10:1). Foto 23. Células subepidérmicas libres de inclusiones situadas bajo epidermis que las contiene. En el centro una célula llena de rafidios de oxalato cálcico (fijación con ácido ósmico y tinción con azul de toluidina; objetivo 24:1). Foto 24. Células epidérmicas, fijadas con OsO_4 y teñidas con orceína, mostrando los cuerpos de inclusión en el estadio de esferitas granulosas más o menos dispersas o en rosario (objetivo 24:1). Foto 25. Estadio igual que el anterior (objetivo 40:1). Fotos 26 y 27. Células epidérmicas en las que las esferitas granulosas se van apiñando para formar cuerpos más compactos, que finalmente adquieren contornos rígidos y aspecto de cristales (fijación con OsO_4 y coloración con orceína; objetivo 24:1).

