



30. Extensión universitaria

Catalogo físico y digital de semillas de orquídeas argentinas

Michel, Analía¹; Lallana, Víctor Hugo²

¹Becaria Estímulo a las Vocaciones Científicas (CIN). PID-UNER 2172 – ²Investigador orientador
analiamichesturtz@gmail.com; victorl@fca.uner.edu.ar

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Universidad Nacional de Entre Ríos

Resumen

Dado el pequeño tamaño de las semillas de orquídeas que dificulta su manipulación, estudio e identificación, y la falta de información sobre especies de Entre Ríos (Argentina), en el marco de un Proyecto de Investigación se mantiene un banco de germoplasma de semillas a partir del cual, se confeccionaron dos catálogos, uno físico y otro digital. El primero consiste en muestras de semillas al natural montadas sobre portaobjetos y selladas en los bordes del cubreobjeto, rotulado con una etiqueta autoadhesiva y almacenado verticalmente en cajas de madera. Este material facilita la observación y manipulación bajo lupa binocular o microscopio. Para el catálogo digital se tomaron fotografías con un microscopio digital (800 X) conectado a un puerto USB de una computadora. Luego las imágenes se procesaron mediante el programa ImageJ, donde se registraron longitud y ancho de semilla y embrión, y se caracterizó color, forma y testa de las semillas de orquídeas. Con las fotografías obtenidas se procedió a estimar el color (RGB) del “pool” de semillas de las diferentes especies. Los catálogos mencionados cuentan con 62 especies de orquídeas (49 epífitas y 13 terrestres). Los registros, ordenados por especie, constituyen la información de base para un catálogo descriptivo de semillas de orquídeas que será puesto a disposición del público a través de una página WEB actualmente en construcción.

Las Palabras clave: recursos genéticos nativos, orquídeas, semillas, catalogación.

Introducción

La familia de orquídeas contiene un elevado número de especies, las cuales presentan características morfológicas muy diversas.

Sus particulares flores, con sus colores y formas, son de gran atractivo como fin ornamental.



En este trabajo nos abocamos específicamente a analizar las semillas de orquídeas, en particular las nativas del litoral Argentino, sobre las cuales existe muy poca información. Las semillas de orquídeas son variadas en cuanto a colores, formas y dimensiones, siendo imprescindible para su estudio el uso de lupas o microscopio dado su pequeñísimo tamaño (semillas “polvo”). De igual forma la manipulación de las muestras es un proceso muy delicado.

Objetivos

El objetivo es confeccionar un catálogo físico y otro digital de semillas de orquídeas, caracterizar su forma, dimensiones y volumen, y difundir mediante una ficha informativa de cada especie la información técnica, métrica y descriptiva de las mismas.

Materiales y Métodos

En el marco de un Proyecto de Investigación PID-UNER 2172, se cuenta con un banco de germoplasmas de semillas de orquídeas sobre el cual se trabajaron 62 muestras.

El catálogo físico se elaboró con muestras de semillas, en estado natural, montadas sobre portaobjetos y selladas en los bordes del cubreobjeto con pintura de uñas transparente, rotulando cada preparado con una etiqueta

autoadhesiva y se almacenan verticalmente en cajas de madera (Di Persia y Lallana, 2015).

Para el catálogo digital se tomaron entre 10 y 15 fotografías con un microscopio digital (zoom de entre 20 y 800X) conectado a un puerto USB de una computadora. Luego las imágenes se procesaron mediante el programa ImageJ (Ferreira y Rasband, 2011), donde se registraron dimensiones físicas y morfológicas de las semillas de orquídeas (Di Persia y Lallana, 2015). Con las fotografías obtenidas para el catálogo digital, se procedió a estimar el color (RGB) del “pool” de semillas de las diferentes especies de orquídeas con un software de imágenes.

Se midió largo y ancho de la semilla y del embrión utilizando el programa ImageJ. A partir de esta información se calculó la relación largo/ancho, volumen de semilla y embrión y por diferencia el volumen de aire. Para determinar volumen de las semillas se usó la fórmula propuesta por Arditti y Ghani (2000), que considera a las semillas de forma fusiforme, similar a dos conos unidos por su base. La fórmula de trabajo fue $2[(A/2)^2(L/2)(1.047)]$, donde A= ancho, L= largo, $1.047 = \pi/3$. Para el volumen del embrión, se deduce que el mismo tiene forma elíptica en su sección transversal, y la fórmula para un esferoide prolado propuesta por Arditti y Ghani (2000) es: $4/3 \pi ab^2$, donde a=



$\frac{1}{2}$ largo y $b = \frac{1}{2}$ ancho) El volumen de aire contenido en la semilla se calculó según $[(\text{Volumen de semilla} - \text{Volumen de embrión}) / \text{Volumen de semilla}] * 100$, de Arditti y Ghani (2000).

Además se efectuó el conteo de semillas de orquídeas, donde se pesó sobre papel de aluminio, previamente tarado, 1 mg de semillas, se volcó en caja de Petri de vidrio, se homogeneizó la muestra y se colocó sobre la caja una cuadrícula de cartulina de color contrastante al de la semilla. Posteriormente se invierte la caja con un movimiento manual

rápido y las semillas quedan dispersadas en la cartulina. Se retira la caja, se ilumina con lámpara de led y se toman fotografías digitales con referencia de la muestra (Lallana, 2015). Luego se realiza el conteo digital de las semillas en cada cuadrícula a través del software ImageJ (Ferreira y Rasband, 2011).

Resultados y Discusión

Los catálogos físico y digital, cuentan con un total de 62 especies de orquídeas (Tabla 1) de las cuales 49 son epífitas y el resto terrestres, y del total, 31 especies son nativas y 6 son citadas para la provincia de Entre Ríos.

Tabla 1. Lista alfabética de especies de orquídeas que integran el catálogo físico y digital. La primer columna indica si la especie es nativa de Argentina (X) y si aparece citada para Entre Ríos (X*) y la segunda columna (Ficha) hace referencia al catálogo descriptivo de las semillas.

N	Ficha	Especie
X	A.01	<i>Acianthera pubescens</i>
X	A.02	<i>Acianthera saundersiana</i>
	A.03	<i>Arundina bambusifolia</i>
	B.01	<i>Bifrenaria aureo fulva</i>
	B.02	<i>Bifrenaria tetragona</i>
X*	B.03	<i>Bipinnula pennicillata</i>
	B.04	<i>Bletilla striata</i>
X	B.05	<i>Brasiliorchis picta</i>
X*	B.06	<i>Brassavola tuberculata</i>
	B.07	<i>Bulbophyllum rothschildianum</i>
	B.08	<i>Bletilla striata var. Alba</i>
X	C.01	<i>Campylocentrum aromaticum</i>
	C.02	<i>Cattleya forbesii</i>

N	Ficha	Especie
X*	G.01	<i>Gomesa bifolia</i>
X	G.02	<i>Gomesa flexuosa</i>
X	G.03	<i>Gomesa longicornu</i>
X	G.04	<i>Gomesa paranaensis</i>
X	G.05	<i>Grandiphyllum pulvinatum</i>
	I.01	<i>Isabelia pulchella</i>
X	I.02	<i>Isochilus linearis</i>
X	L.01	<i>Leptotes unicolor</i>
X	M.01	<i>Microlaelia lundii</i>
X	M.02	<i>Miltonia flavescens</i>
	M.03	<i>Miltonia regnellii f. alba</i>
	M.04	<i>Myrmecophila tibicinis</i>
	N.01	<i>Neobenthamia gracilis</i>



	C.03	<i>Cattleya guttata</i>
	C.04	<i>Cattleya intermedia</i>
	C.05	<i>Cattleya leopoldii</i>
	C.06	<i>Cattleya nobilior</i>
	C.07	<i>Cattleya porphyroglossa</i>
	C.08	<i>Cattleya walkeriana</i>
X*	C.09	<i>Chloraea membranacea</i>
X	C.10	<i>Chloraea philippii</i>
X*	C.11	<i>Cyclopogon elatus</i>
X	C.12	<i>Cyrtopodium palmifrons</i>
	D.01	<i>Dendrobium kingianum</i>
X	E.01	<i>Encyclia argentinensis</i>
	E.02	<i>Epidendrum campaccii</i>
	E.03	<i>Epidendrum ibaguense</i>
	E.04	<i>Epidendrum paniculatum</i>
	E.05	<i>Epidendrum puniceoluteum</i>
	E.06	<i>Epidendrum revolutum</i>
	E.07	<i>Epidendrum secundum var. albescens</i>

X	O.01	<i>Oeceoclades maculata</i>
X	O.02	<i>Oncidium bifolium var. majus</i>
	O.03	<i>Oncidium croesus</i>
X	O.04	<i>Oncidium fimbriatum</i>
	O.05	<i>Oncidium oblongatum</i>
	P.01	<i>Papilionanthe teres</i>
	P.02	<i>Papilionanthe vandarum</i>
X	P.03	<i>Polystachya concreta</i>
	P.04	<i>Prosthechea lineata</i>
	P.05	<i>Pteroglossa roseoalba</i>
	R.01	<i>Rhyncholaelia digbyana</i>
X	R.02	<i>Rodriguezia decora</i>
X*	S.01	<i>Skeptrostachys paraguayensis</i>
X	S.02	<i>Sophronitis cernua</i>
X	T.01	<i>Trichocentrum cebolleta</i>
X	T.02	<i>Trichocentrum jonesianum</i>
X	Z.01	<i>Zygopetalum maxillare</i>
	Z.02	<i>Zygopetalum triste</i>

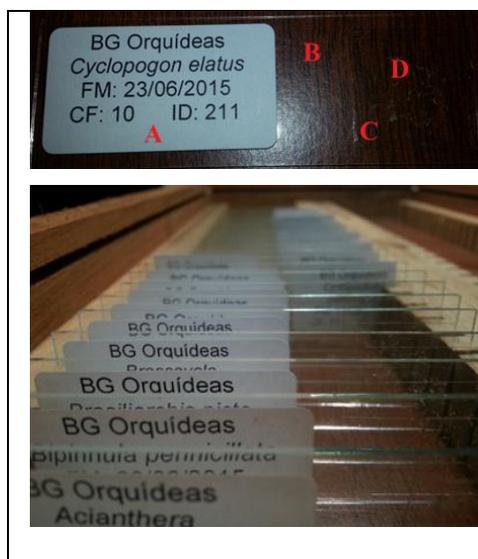


Figura 1. Detalle del montaje de una muestra de semillas (A: Rótulo; B: Portaobjetos; C: Cubreobjetos; D: Semillas) y en la parte inferior caja de almacenamiento de las muestras.



En la Figura 1 se observa un detalle de un preparado de muestra de semillas de orquídeas y su almacenamiento en caja de madera. El catálogo físico facilita la En la Tabla 2, se describe las dimensiones físicas de 8 especies nativas de Argentina, donde se especifica largo y ancho de semilla y embrión, relación largo/ancho, volumen de semilla y embrión, volumen de aire y conteo de semillas sobre una muestra de 1 mg. En relación a la longitud de las semillas y tomando como escala la propuesta por Barthlott *et al.* (2014) la mayoría de las semillas se clasifican como muy pequeñas, a excepción de *Cyclopogon elatus* que es de tamaño medio y *Miltonia flavescens* que es muy larga y la que posee el mayor volumen de aire (Tabla 2). Hay dos grupos de semillas, aquellas que tienen un volumen de aire menor al 50 % y otro grupo (*Cyclopogon elatus*, *Trichocentrum jonesianum*, *Zygopetalum maxillare* y *Miltonia flavescens*) que superan ampliamente este valor -70 y 93 %- (Tabla 2). Esta variable es importante para considerar la dispersión a grandes distancias de las semillas (Arditti y Ghani 2000). Un estudio reciente (Sedano *et al.* 2017) demostró para el caso de *Oncidium bifolium* que las semillas pueden dispersarse hasta 10 km de la planta madre con una densidad 7 semillas por ha.

El número de semillas por mg varió entre 240 y 1800 según las especies (Tabla 2),

observación, manipulación y transporte de muestras de semillas para su observación bajo lupa binocular o microscopio.

observando en general que las semillas más pequeñas en longitud poseen mayor número de semillas (1000 a 1800). Para el caso de *O. bifolium* se han realizado recuentos de 13.418 ± 1554 semillas por fruto y para *Chlorea membranacea* de 28.679 ± 8.409 (Michel y Lallana, 2015). La producción de un gran número de semillas por capsula ha sido descrita como una característica común de plantas que poseen requisitos muy específicos de germinación (Rasmussen, 1995).

Con parte de la información de la Tabla 2, las imágenes del catálogo digital, imágenes de frutos y ensayos de viabilidad, la distribución geográfica y la descripción morfológica de las semillas se confeccionó un modelo de Ficha Descriptiva de cada especie (Figura 2). Esta estructura servirá de base para armar un catálogo digital de semillas de orquídeas que será puesto a disposición del público a través de una página WEB del proyecto actualmente en construcción.



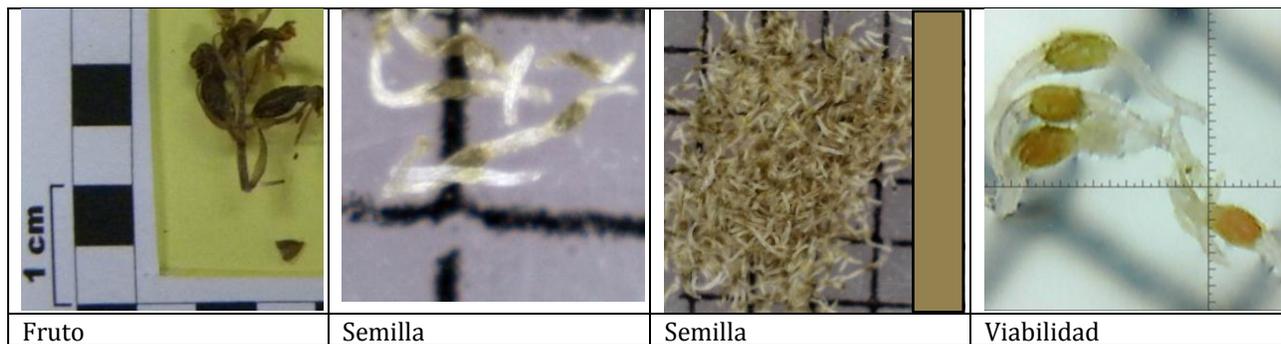
Tabla 2. Dimensiones físicas de las semillas y embrión de 8 especies de orquídeas nativas de Argentina. Cálculo del volumen de aire y número de semillas por mg. ID: identificación semillas del banco de germoplasma; Rel L/A: relación largo/ancho.

Especie	ID	Semilla				Embrión				Volumen de aire (%)	Nº semillas/mg	
		Largo (mm)	Ancho (mm)	Rel L/A	Vol. (mm ³)	Largo (mm)	Ancho (mm)	Rel L/A	Vol. (mm ³)		Promedio	Desvío
<i>Chlorea membranacea</i>	302	0,348	0,123	2,832	0,001	0,158	0,098	1,620	0,00079	42,77%	1398	143
<i>Cyclopogon elatus</i>	211	0,784	0,125	6,272	0,0032	0,212	0,093	2,280	0,00096	70,06%	931	245
<i>Oncidium bifolium</i>	87	0,3912	0,0788	4,962	0,0006	0,1417	0,0642	2,208	0,00031	52,01%	1550	80
<i>Miltonia flavescens</i>	214	2,471	0,237	10,426	0,0363	0,263	0,131	2,008	0,00236	93,50%	240	16
<i>Oncidium fimbriatum</i>	298	0,3184	0,0726	4,389	0,0004	0,1270	0,0610	2,082	0,00025	43,62%	973	142
<i>Polystachya concreta</i>	109	0,240	0,103	2,333	0,0006	0,141	0,073	1,943	0,00039	41,39%	846	161
<i>Trichocentrum jonesianum</i>	260	0,222	0,065	3,415	0,0002	0,094	0,037	2,541	0,00007	72,56%	1805	79
<i>Zygopetalum maxillare</i>	78	0,475	0,115	4,130	0,0016	0,159	0,063	2,524	0,00033	79,91%	1023	2

CATALOGO DESCRIPTIVO DE SEMILLAS DE ORQUIDEAS
Banco de Germoplasma de Orquídeas - FCA - UNER

BGO (2015). Ficha C-11.

Nº ficha	ID	Especie	ingreso	Polinización
C-11	211	<i>Cyclopogon elatus</i>	22/10/2012	Natural

Especie: *Cyclopogon elatus* (Sw.) Schltr.

Distribución geográfica	Argentina: Buenos Aires, Chaco, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Jujuy, Misiones, Salta, Santiago del Estero, Santa Fe, Tucumán Brasil: Parana, Rio Grande Do Sul, Santa Catarina Paraguay: Alto Paraná, Guairá, San Pedro Uruguay: Artigas, Cerro Largo, Colonia, Lavalleja, Maldonado, Río Negro, Rivera, Rocha, Salto, San José, Soriano, Tacuarembó, T.y T. Orientales
Elevación (m.s.m)	Mín. 0; Máx. 600
Hábitat	Perenne
Nativa	SI

FRUTO

Fecha de colecta: 19/10/2012

Colector: Jonathan

Lugar de colecta: S/D

Dimensiones externas del fruto Largo: 0,489 cm Ancho: 0,224 cm

SEMILLA

Descripción cualitativa de las semillas observadas en lupa:

Semillas numerosas, de color blanquecino, testa reticulada; presentan forma filiforme, relación largo/ancho alargada. De tamaño medio. El embrión es visible, se encuentra en la parte central de las semillas; presenta un color pardo claro caracterizando a las semillas que lo poseen de dicho color; el embrión ocupa aproximadamente 1/3 parte de la semilla.

Dimensiones de la semilla Largo: 0,784 mm Ancho: 0,125 mm

Estimación del número y peso de semillas por fruto:

Peso total de las semillas cosechadas por fruto: S/D

Número de semillas por mg: S/D

Número total de semillas por fruto: S/D

Fecha de determinación: S/D

Operador: S/D

Color del pool de semillas:

Valor RGB: 147; 129; 80 (ajustada)

Valor RGB: 128; 128; 92 (original)



Figura 1. Modelo de ficha descriptiva para el catálogo digital.



Conclusiones

La confección del catálogo físico facilita la observación y manipulación de semillas de orquídeas, en estado natural y constituye un material de referencia para trabajos de investigación y de consulta en colecciones botánicas de instituciones públicas.

El catálogo digital complementa la información del catálogo físico y la información sistematizada, a través de las fichas descriptivas individuales, de las dimensiones físicas y morfológicas de semillas. Además contiene fotografías del fruto, semillas y ensayos de viabilidad, hábitat y distribución geográfica enriqueciendo la caracterización de las especies. Los registros, ordenados por especie, constituyen la base para un catálogo descriptivo que será puesto a disposición del público a través de una página WEB actualmente en construcción.

Bibliografía

Arditti, J.; Ghani, A. K. (2000). Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytol.*, 145:367 - 421

Barthlott, W.; Grobe-Veldmann, B.; Korotkova, N. (2014). Orchid seed diversity: a scanning

electron microscopy survey. Botanic and Garden and Botanical Museum Berlin-Dahlem (BGBM). Freie Universität Berlin. Germany. 245 p.

Di Persia, F.; Lallana, V.H. (2015). *Protocolo N° 15 - BGO. Catálogo Físico de semillas de orquídeas*. Facultad de Ciencias Agropecuarias - UNER. Recuperado de <http://www.orquier.fca.uner.edu.ar/>

Di Persia, F.; Lallana, V.H. (2015). *Protocolo N° 16 - BGO. Catálogo digital de semillas de orquídeas*. Facultad de Ciencias Agropecuarias - UNER. Recuperado de <http://www.orquier.fca.uner.edu.ar/>

Ferreira, T. & W. Rasband. (2011). *ImageJ user guide. IJ 1.45 m* 152p. Research Services Branch. Recuperado de <http://imagej.nih.gov/ij/docs/userguide.pdt>.

Lallana, V.H. (2015). Nuevo método para el conteo de semillas de orquídeas. XII Reunión de Ciencias Naturales del Litoral, Paraná, 2 de noviembre de 2015. Resúmenes p. 119.

Michel, A.; Lallana, V.H. (2015). Conteo de semillas de frutos de *Chloraea membranacea* Lindl. y un híbrido de *Gomesa bifolia* (Sims) M.W. Chase & N.H. Williams. X Jornada de Comunicación de Producciones



Académicas y Científicas en Biología. FCyT.
UADER. Paraná 08 de octubre de 2015. P. 1-5.

Rasmussen, H.N. (1995). Terrestrial orchids:
from seed to mycotrophic plant. Cambridge
University Press, Cambridge, UK. 460p.

Sedano, C. G.; Aguirre, C. A; Lallana, V. H.
(2017). Análisis de la dispersión de semillas
de orquídeas autóctonas del litoral argentino
utilizando una herramienta de simulación
computacional. X Reunión de Comunicaciones
Científicas y Técnicas y VIII Reunión de
Extensión, Oro Verde, 8 de junio de 2017.
Resumen p. 13.

Agradecimientos

Al Consejo Interuniversitario Nacional (CIN)
por financiar la beca del primer autor y
permitirme participar en el Proyecto PID-
UNER 2172, a cargo del Dr. Víctor Lallana.

Al Sr. Mariano Michel, de Gualeguaychú, por
habernos facilitado la construcción y
donación de dos cajas de madera para el
catálogo físico.

Financiamiento

Este trabajo fue realizado en el marco de un
proyecto de Investigación y Desarrollo (PID
2172) financiado por la Universidad Nacional
de Entre Ríos.