

NUCLEO DISCIPLINAR / COMITÉ ACADÉMICO (7/24)

**MORFOMETRIA DE SEMILLAS DE ORQUIDEAS DE CINCO
ESPECIES DEL GENERO *ONCIDIUM* DEL LITORAL ARGENTINO**KATYA MARLENE SCHIMPF¹
VICTOR HUGO LALLANA²

¹Becario de Estímulo a las Vocaciones Científicas – CIN- (PID-UNER 2144) y ²Docente orientador. Universidad Nacional de Entre Ríos. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Cátedra de Fisiología Vegetal. Oro Verde, Ruta 11, Km 10,5. Entre Ríos. Argentina. E-mail: katyschimpf@hotmail.com, victor1@fca.uner.edu.ar

Las semillas de orquídeas son muy pequeñas, extremadamente livianas, y producidas en gran número. Las características de la semilla condicionan su capacidad de dispersión, y por ende el éxito de su supervivencia. El embrión ocupa solo un pequeño espacio dentro de la cubierta seminal, el espacio remanente se encuentra lleno de aire. Como resultado, las semillas pueden permanecer en el aire por largos periodos lo cual facilita su dispersión a varios kilómetros. Las semillas de orquídea no poseen ningún tipo de reservas o endosperma, y encierran embriones indiferenciados con una cubierta seminal transparente. La testa y el embrión de diferentes taxones de Orchidaceae pueden variar en sus dimensiones, forma, color y en la proporción de sus volúmenes, lo cual puede explicar su capacidad de dispersión. Estas semillas son las más pequeñas entre las semillas producidas por plantas angiospermas. El presente trabajo tiene como objetivo establecer las características físicas y relaciones morfoanatómicas de 5 especies y una variedad del género *Oncidium*, nativas del Litoral Argentino. Se utilizaron muestras de semillas recolectadas y almacenadas en heladera, provenientes del Banco de Germoplasma de Semillas de Orquídeas (BGO) del PID-UNER 2144 (Facultad de Ciencias Agropecuarias-UNER). Las especies estudiadas fueron *Oncidium bifolium*, *O. bifolium* “Pétalos amarillo”, *O. fimbriatum*, *O. longicornu*, *O. paranaense* y *O. viperinum*. De cada muestra se tomaron pequeñas fracciones de semillas y se montaron sobre portaobjetos con fondos de distintos colores para permitir un mejor contraste de las semillas, para la toma de microfotografías digitales utilizando un microscopio manual “Supereyes”(20-200X). Las mediciones lineales de las semillas y del embrión se realizaron sobre las microfotografías, mediante el software de código abierto de dominio público Image J. Se estableció una escala de referencia con una cuadrícula milimetrada la cual quedó establecida en 1mm=258 pixeles. A partir de las medidas de largo y ancho de semilla y embrión, se calculó el volumen de la semilla, el volumen del embrión y el volumen de aire contenido por la testa. Además de las fotografías, se observó las muestras completas bajo lupa, para hacer una descripción del color y características de la testa. Los resultados consisten en una descripción detallada de las semillas de las 5 especies y una variedad de *Oncidium*, registrando el color de semilla, color de embrión, características de la testa (lisa o estriada, color), largo de semilla y embrión, ancho de semilla y embrión, volumen de semilla, volumen de embrión, volumen de aire contenido por la semilla, relación largo ancho, tanto de la semilla como del embrión, y relación volumen de semilla/volumen de embrión. En cuanto al color, las 5 especies presentan semillas color amarillo claro, los embriones varían entre el verde claro y al amarillo claro. La mayor relación largo/ancho es la de *O. longicornu*, y la menor corresponde a *O. bifolium* “petalos amarillo”. El rango de volúmenes fue desde $5,44 \cdot 10^{-4} \text{ mm}^3$ a $2,77 \cdot 10^{-4} \text{ mm}^3$. El valor más alto corresponde a *O. bifolium* y el menor valor *O. longicornu*. La mayor relación volumen semilla/volumen embrión corresponde a *O. viperinum*, y el menor a *O. fimbriatum*, y las semillas con la mayor proporción de aire fueron las de *O. viperinum*, y con menor proporción *O. fimbriatum*.

Palabras claves: Semillas – morfología – orquídeas.

Introducción

La presente investigación está enmarcada en las actividades de un proyecto de investigación (Lallana y Billard, 2009) donde se ha creado un Banco de Germoplasma de semillas de orquídeas (BGO) que a la fecha cuenta con 249 accesiones. El proyecto se centra en el rescate y propagación de especies nativas de orquídeas de la zona del litoral, en particular las que crecen en la diversidad de hábitats palustres y selvas ribereñas de los arroyos de Entre Ríos, contribuyendo a la preservación de las especies ante el avance de las actividades antrópicas en los ecosistemas.

Dentro de las actividades del BGO está la catalogación e identificación de semillas, conservación y almacenamiento, estudios de morfología, descripción botánica y pruebas de viabilidad en el tiempo.

Como es sabido las semillas de orquídeas son las más pequeñas producidas por las plantas angiospermas (Arditti et al., 1980). Además de su pequeñísimo tamaño son muy livianas y producidas en gran número, así por ejemplo 1 mg de semillas de *Oncidium bifolium* contiene aproximadamente 1.700 semillas y un fruto de 2,5 cm de longitud contiene 693 mg de semillas lo cual equivale a 1.178.100 semillas (Lallana et al., 2010).

Las características de la semilla condicionan su capacidad de dispersión, y por ende el éxito de su supervivencia. El embrión ocupa solo un pequeño espacio dentro de la cubierta seminal, el espacio remanente se encuentra lleno de aire. Como resultado, las semillas pueden permanecer en el aire por largos periodos lo cual facilita su dispersión a varios kilómetros (Arditti y Ghani, 2000). Las semillas de orquídea no poseen ningún tipo de reservas o endosperma, y encierran embriones indiferenciados con una cubierta seminal transparente. La testa y el embrión de diferentes taxones de Orchidaceae pueden variar en sus dimensiones, forma, color y en la proporción de sus volúmenes, lo cual puede explicar su capacidad de dispersión (Arditti et al., 1980, Augustine et al., 2001). La dificultad de humedecer la superficie exterior de la testa, y sus grandes espacios internos aéreos, le permite a las semillas flotar en el agua por tiempo prolongado (Arditti & Ghani, 2000)

El presente trabajo tiene como **objetivo** realizar una descripción botánica-morfológica y sus relaciones morfométricas de semillas de 5 especies y una variedad del género *Oncidium* (Orchidaceae), nativas del Litoral Argentino.

Materiales y métodos

Se utilizaron muestras de semillas recolectadas y almacenadas en heladera ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) provenientes del Banco de Germoplasma de Semillas de Orquídeas (Lallana et al., 2011) de la Facultad de Ciencias Agropecuarias-UNER. Las muestras de semillas corresponden a las siguientes especies epífitas de orquídeas: *Oncidium bifolium*, *O. bifolium* “pétalos amarillo”, *O. fimbriatum*, *O. longicornu*, *O. paranaense* y *O. viperinum*.

De cada muestra se tomó pequeñas fracciones de semillas y fueron colocadas sobre un portaobjetos, buscando para cada muestra un fondo del color que permitiera la mejor visualización y contraste de las semillas. Se tomaron microfotografías de las muestras utilizando un Microscopio Digital Manual “Supereyes” (10X A 200X). Las mediciones de la semilla y el embrión se realizaron sobre las microfotografías, mediante el software de código abierto de dominio público Image J (Ferreira. y Rasband, 2011). Para establecer una escala de referencia, se realizaron varias microfotografías de una superficie milimetrada, estableciendo la siguiente escala 1mm de la imagen=258 pixeles.

A partir de las medidas de largo y ancho de semilla y embrión, se calculó el volumen de la semilla a partir de la fórmula $2 [(A/2)^2 (1/2L) (1.047)]$, donde A= Ancho, L = Largo, $1.047 = \pi/3$ (Arditti et al., 1980). El volumen del embrión, por ser de forma elíptica, se calculó con la fórmula $4/3 \pi ab^2$, donde a = $\frac{1}{2}$ largo y b = $\frac{1}{2}$ ancho (Krisma Swamy et al., 2004).

Al ser las semillas tan pequeñas, es difícil establecer su color observándolas en bajas cantidades o densidades por campo de observación, por lo que además de las fotografías, se observaron las muestras completas en su envase de almacenamiento bajo lupa binocular, para hacer una descripción del color y características de la testa.

Resultados

Descripción botánica y forma de las semillas

A partir de las observaciones en lupa binocular las semillas presentaron una coloración amarillo a amarillo claro, mientras que el embrión en tres especies presentó una coloración verde claro y el resto amarillo claro.

En cuanto a las características morfológicas las semillas de:

Oncidium bifolium, son de color amarillo claro, largas, de forma ahusada, con un extremo más agudo. La testa es transparente, con estrías longitudinales, de brillo perlado. El embrión es grande, oval, color amarillo, y ocupa un 60% del volumen de la semilla.

Oncidium bifolium “pétalos amarillo”, son de color amarillo, largas, de forma ahusada. La testa es transparente, con estrías longitudinales, de brillo perlado. El embrión es oval, verde claro, y ocupa un 69% del volumen de la semilla.

Oncidium paranaense, son de color amarillo claro, de forma ahusada. La testa es transparente, con estrías longitudinales, de brillo perlado. El embrión es oval, de color amarillo claro, y ocupa un 59% del volumen de la semilla.

Oncidium viperinum, son de forma ahusada, color amarillo claro, la testa es transparente, con estrías longitudinales, de brillo perlado. El embrión es oval, de color amarillo pálido, y ocupa un 47% del volumen de la semilla.

Oncidium fimbriatum, son de forma ahusada, color amarillo, la testa es transparente, rugosa, con estrías longitudinales, de brillo perlado opaco. El embrión es grande, oval, color verde claro, y ocupa un 72% del volumen de la semilla.

Oncidium longicornu, son de color amarillo claro, forma ahusada, la testa es transparente, con estrías longitudinales, de brillo perlado. El embrión es oval, verde claro, y ocupa un 54% del volumen de la semilla.

Dimensiones físicas

En las Tablas 1 y 2 se sintetizan las variables físicas y cálculos morfométricos de las semillas y de los embriones de las especies del género *Oncidium* analizadas. La longitud de las semillas varió entre 0,262 y 0,395 mm y el ancho entre 0,056 y 0,073 mm (Tabla 1). En el caso de los embriones los rangos fueron de 0,125 a 0,183 mm para el largo y 0,047 a 0,061 para el ancho (Tabla 2). En la Figura 1 se ilustran las microfotografías de las semillas con la escala de referencia.

La relación largo ancho de semillas fue alta para *O. bifolium* y *O. longicornu* (Tabla 1), mientras que para los embriones *O. bifolium*, *O. fimbriatum* y *O. bifolium* “pétalos amarillo” presentaron los mayores valores (Tabla 2). *O. viperinum* presentó el mayor volumen de aire (53%) y la mayor relación volumen semilla / volumen embrión (Tablas 1 y 2).

Tabla 1. Largo y ancho de semillas del género *Oncidium*, relación largo ancho (L/A) y cálculo del porcentaje de aire.

N= número de mediciones.

Especie	N	Semilla				
		Largo (mm)	Ancho (mm)	L/A	Volumen (mm ³)	% Aire
<i>Oncidium bifolium</i>	13	0,395	0,071	5,816	5,44E-04	40%
<i>O. bifolium</i> “Pétalos amarillos”	10	0,262	0,064	4,280	2,96E-04	31%
<i>O. fimbriatum</i>	13	0,313	0,072	4,374	4,26E-04	28%
<i>O. longicornu</i>	11	0,328	0,056	5,993	2,77E-04	46%
<i>O. paranaense</i>	11	0,326	0,073	4,455	4,72E-04	41%
<i>O. viperinum</i>	15	0,344	0,072	4,882	4,67E-04	53%

Tabla 2. Largo y ancho del embrión contenido en semillas del género *Oncidium*, relación largo ancho (L/A) y relación del volumen de la semilla / volumen del embrión. N= número de mediciones.

Especie	N	Embrión				
		Largo (mm)	Ancho (mm)	L/A	Volumen (mm ³)	Volumen semilla/volumen embrión
<i>Oncidium bifolium</i>	13	0,183	0,057	3,355	3,31E-04	1,76
<i>O. bifolium</i> “Pétalos amarillos”	10	0,142	0,051	2,920	2,02E-04	1,53

<i>O. fimbriatum</i>	13	0,164	0,059	2,803	3,04E-04	1,46
<i>O. longicornu</i>	11	0,125	0,047	2,681	1,56E-04	2,03
<i>O. paranaense</i>	11	0,140	0,061	2,310	2,74E-04	1,74
<i>O. viperinum</i>	15	0,130	0,056	2,339	2,21E-04	2,34

Discusión

Relación largo/ancho

De acuerdo a Arditti *et al.* (1980) y Augustine *et al.* (2001) la relación largo/ ancho provee importante información en cuanto al grado de truncamiento de la semilla en orquídeas. En este caso la mayor relación largo/ancho es la de *O. longicornu*, (5,99) y la menor corresponde a *O. bifolium* “pétalos amarillo” (4,28), (Tabla 1).

Volumen de la semilla

Según Arditti *et al.* (1979), el volumen de la semilla de orquídea es un reflejo del tamaño de la semilla. En el presente trabajo el rango de volúmenes fue de $2,77 \cdot 10^{-4} \text{ mm}^3$ a $5,44 \cdot 10^{-4} \text{ mm}^3$. El valor más alto correspondió a *O. bifolium* seguido de *O. paranaense*, *O. viperinum*, *O. fimbriatum*, *O. bifolium* “pétalos amarillo” y *O. longicornu* (Tabla 1). El mayor valor de volumen de *O. bifolium* se corresponde con el mayor valor de longitud de la semilla (0,395 mm), a diferencia de *O. longicornu*, en el cual el menor volumen se debe al menor valor de ancho de semilla (0,056 mm), (Tabla 1).

Características de los embriones

Los embriones son de color verde claro en *O. bifolium* “pétalos amarillo”, *O. fimbriatum* y *O. longicornu*, mientras que *O. bifolium*, *O. paranaense* y *O. viperinum* poseen embriones color amarillo claro. También se observaron variaciones en cuanto al largo, ancho, y relación largo/ancho de los embriones (Tabla 2), encontrando la mayor relación largo/ancho en *O. bifolium* (3,355), y la menor en *O. paranaense* (2,310), el resto de las especies varió entre 2,92 y 2,33.

Los embriones, en las orquídeas, tienden a ser uniformes dentro de un género (Healey *et al.*, 1980). Pero Arditti *et al.* (1980) afirma que existen grandes diferencias en cuanto al volumen de semilla y embrión, y porcentaje de espacio de aire, entre diferentes poblaciones de la misma especie. En este caso, en cuanto al volumen, el mayor valor es del embrión de *O. bifolium* ($3,31 \cdot 10^{-4} \text{ mm}^3$), coincidente con el mayor valor de longitud (0,183 mm), y el menor valor hallado en *O. longicornu* ($1,56 \cdot 10^{-4} \text{ mm}^3$), coincide con el menor valor de ancho de embrión (0,047 mm). En el resto de las especies los valores de volumen de embrión varían entre $2,02 \cdot 10^{-4} \text{ mm}^3$ y $3,04 \cdot 10^{-4} \text{ mm}^3$ (Tabla 2).

Relación volumen semilla/volumen embrión

Las semillas de orquídea tienen poco peso y están adaptadas a la dispersión por viento (anémocora). Contienen embriones indiferenciados, envueltos en una fina testa, y el aire llena el espacio entre esta y el embrión. Consecuentemente, de las semillas que poseen una mayor relación volumen semilla/volumen embrión, se espera que sean más ligeras y flotantes, que aquellas con una menor relación (Krishna Swamy *et al.*, 2004). En el presente trabajo, la mayor relación volumen semilla/volumen embrión correspondió a *O. viperinum* (V/V=2,34), y la menor a *O. fimbriatum* (V/V=1,46). Los valores de las demás especies variaron en un rango de 1,53 a 2,03 (Tabla 2).

Proporción de aire

El espacio lleno de aire en las semillas de orquídea es de gran interés morfológico. Durante la maduración de las semillas se produce un aumento en el porcentaje de espacio de aire. La biología de las orquídeas se hace muy interesante por la presencia de espacios de aire, que hacen que las semillas sean más livianas y flotantes. Esto es muy útil en cuanto a la anemócora y la distribución fitogeográfica de las orquídeas (Krishna Swamy *et al.*, 2004). Las semillas con la mayor proporción de aire fueron las de *O. viperinum* (53%), y la de menor proporción *O. fimbriatum* (28%). El resto de las especies variaron entre 31% y 46% de aire (Tabla 1).

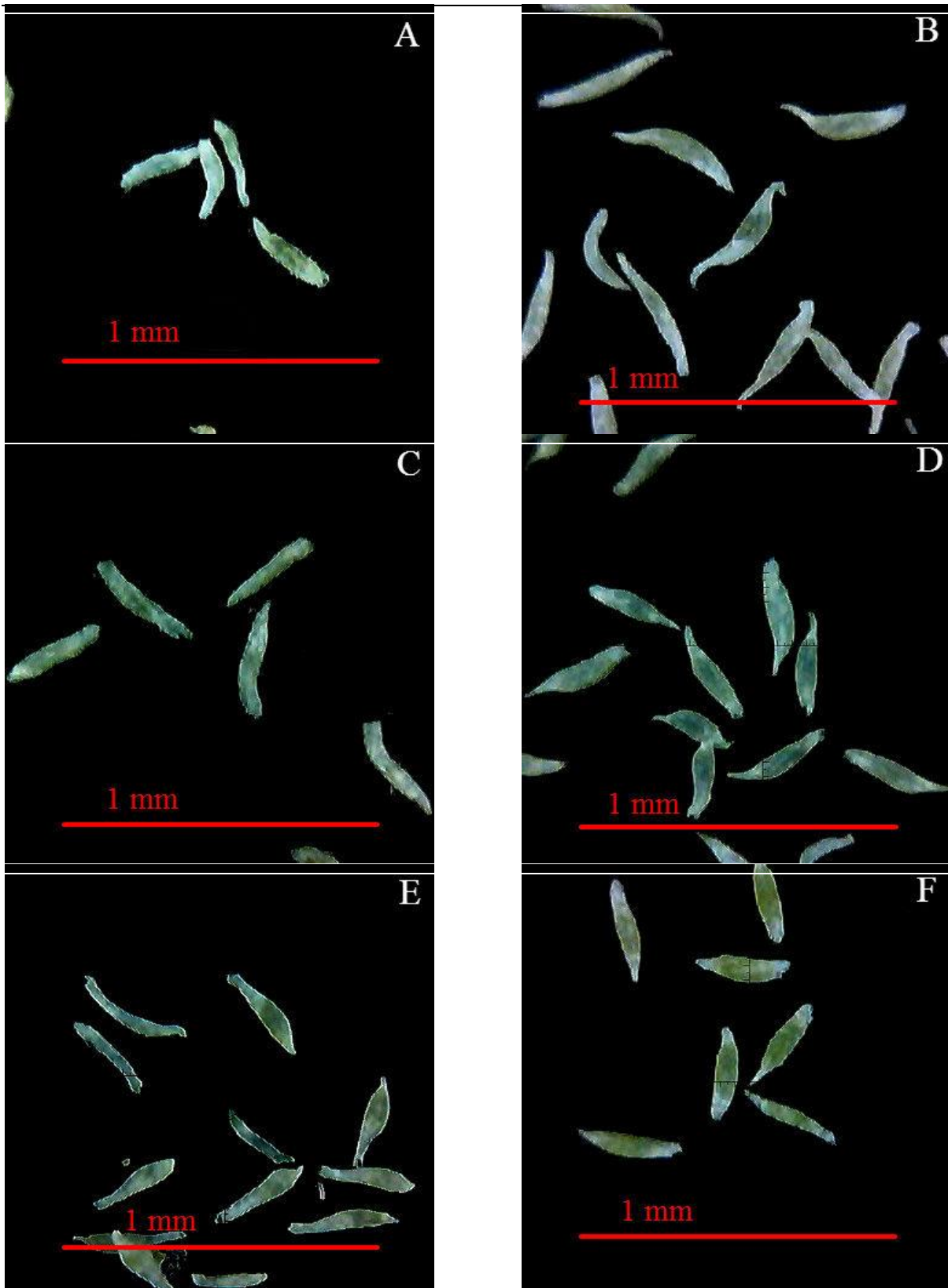


Figura 1. Microfotografías de semillas de *Oncidium bifolium* “Petalos marillos” (A), *O. bifolium* (B), *O. longicornu* (C), *O. paranaense* (D), *O. viperinum* (E), y *O. fimbriatum*.(F).

Referencias

- Arditti J. and Ghani A. K. A. 2000. Tansley Review No. 110 Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. Malaysia. REVIEW New Phytol. 145: 367-421
- Arditti, J., J. D. Michaud and Healey P. L. 1979. Morphometry of orchid seeds. I. *Paphiopedilum* and native California and related species of *Cypripedium*. Amer. J. Bot. 66: 1128-1137.
- Arditti, J., Michaud J. D. and Healey P. L. 1980. Morphometry of orchid seeds. II. Native California and related species of *Calypso*, *Cephalanthera*, *Corallorhiza* and *Epipactis*. Amer. J. Bot. 67: 347-365.
- Augustine, J., Yogendrakumar and Sharma J. 2001. Orchids of India-II. Biodiversity and status of *Bulbophyllum*. Thou Daya publishing house, Trinagar, New Delhi. 99 pp.
- Ferreira, T. y Rasband, W. (2011). Imagen J user guide. IJ 1.45 m 152p. Disponible en: http://imagen.nih.gov/ij/docs/user_guide.pdt. (Consulta Agosto 2011).
- Healey, P. L., J. D. Michaud and J. Arditti. 1980. Morphometry of orchid seeds. III Native California and related species of *Goodyera*, *Piperia*, *Platanthera* and *Spiranthes*. Amer. J. Bot. 67: 508-518.
- Krishna Swamy K., Krishna Kumar H. N., Ramakrishna T. M. and Ramaswamy S. N., 2004. Studies on Seed Morphometry of Epiphytic Orchids from Western Ghats of Karnataka. Taiwania, 49: 124-140.
- Lallana, V.H., Billard, C.E. (2009). Conservación de orquídeas nativas de Entre Ríos utilizando técnicas de cultivo de tejidos "in vitro". 31 p. Facultad de Ciencias Agropecuarias. UNER. Secretaria de Ciencia y Técnica.
- Lallana, V.H., Billard, C.E.; Klug, L.M. (2010). Germinación y desarrollo de plántulas "in vitro" de *Oncidium bifolium* Sims var. *bifolium* (Orchidaceae)". Libro de resúmenes, pp. 272-274. En: V Congreso Argentino de Floricultura y Plantas Ornamentales. Comp. por Claudia Gallardo y Elena Gagliano. 1ra. Ed. – Paraná: Universidad Nacional de Entre Ríos. UNER. 354 pp
- Lallana, V.H.; Billard, C.E.; García, L.F.; Dalzotto, C.; De La Cruz, V.; Martinez, V.A. y D. Heinze (2011). Conservación de orquídeas nativas de Entre Ríos utilizando técnicas de cultivo de tejidos "in vitro". 1er. Informe de Avance. PID-UNER 2144. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Entre Ríos. 45 p. y 5 Anexos. 16 Fig., 8 Tablas, 17 Ref.