RESEARCHS / INVESTIGACIÓN

Análisis morfológico y morfométrico de semillas de tres especies de orquídeas nativas de la región neotropical del Ecuador.

Morphological and morphometric analysis of seeds of three species of native orchids from the neotropical region of Ecuador.

Vaca, I.¹, Cueva, E. Moya, B., Acurio, R. ¹, Chiluisa-Utreras, V. ¹

DOI. 10.21931/RB/2018.03.01.8

Resumen: El presente estudio constituye el primer reporte que describe las características morfológicas y morfométricas de Elleanthus capitatus, Epidendrum frutex y Odontoglossum hallii, tres especies nativas del Ecuador. Se encontró que las especies Epidendrum frutex y Odontoglossum hallii son estadísticamente diferentes a Elleanthus capitatus en relación a la longitud y número de semillas por miligramo, ésta última resultó ser más pequeña. Los rangos de longitud encontrados variaron entre 0,231 mm (Elleanthus capitatus) hasta 0,702 mm (Odontoglossum hallii), mientras que el promedio del número de semillas por miligramo varió entre 702 (Epidendrum frutex) a 982 (Elleanthus capitatus) semillas/mg. Sin embargo, el diámetro de la semilla no presentó diferencia significativa entre especies, con un rango promedio de 0,06 a 0,08 mm. Además, se evalúo el color observado en las semillas, teniendo en cuenta el modelo de color RVA para su reporte. Las descripciones de las características de las semillas son de vital importancia con el fin de elucidar las relaciones taxonómicas, geográficas, filogenéticas y de conservación para la gran diversidad de orquídeas.

Palabras clave: Elleanthus capitatus, Epidendrum frutex, Odontoglossum hallii, orquídeas ecuatorianas

Abstract: The present research is the first report describing the morphological and morphometric characteristics of *Elleanthus capitatus*, *Epidendrum frutex* and *Odontoglossum hallii*, Ecuadorian three native species. It was found that species *Epidendrum frutex* and *Odontoglossum hallii* are statistically different from *Elleanthus capitatus* in relation to the length and number of seeds per milligram, the last one was found to be smaller. The seeds' length was 0.2131 mm (*Elleanthus capitatus*) to 0.702 mm (*Odontoglossum hallii*), while the average number of seeds per milligram from 702 (*Epidendrum frutex*) to 982 (*Elleanthus capitatus*) seeds/mg. However, the diameter of the seed showed no significant difference between species, with an average range of 0.06 to 0.08 mm. In addition, the color observed in the seeds was evaluated by RVA color model for its report. The description of the seeds are of vital importance in order to elucidate the taxonomic, geographic, phylogenetic and conservation relationships for the great diversity of orchids.

Key words: Elleanthus capitatus, Epidendrum frutex, Odontoglossum hallii, Ecuadorian Orchids.

Introducción

La familia Orquidaceae es una de las más numerosas del Ecuador, actualmente es el primer país en número de especies, cuenta con 3549 especies y es muy probable que existan otras por descubrir¹. En 2005 se publicó el "Opus Magnum de la orquideología neotropical", que describe 100 especies nuevas de orquídeas, de las cuales 52 son ecuatorianas². De la población de orquídeas en el Ecuador, el 42% corresponde a especies endémicas (1710 especies), y la mayoría (1455 especies) presenta algún tipo de amenaza, de las cuales el 87% son vulnerables³.

En general las orquídeas crecen a diferentes alturas (0-4000 msnm), poseen hábitos muy variables y pueden ser libres o epífitas, su longitud puede variar desde centímetros hasta alcanzar los 3 m de altura, el tamaño de las flores varía desde milímetros hasta 15 cm, sus semillas son ultrafinas y no poseen tegumento alimenticio para su crecimiento por lo que para su germinación requieren realizar simbiosis con micorrizas⁴. De forma específica se han desarrollado diferentes estudios sobre la morfología en orquídeas en todo el mundo, Singer⁵ escribió un artículo de reflexión sobre la morfología floral y polinización de las orquídeas basado en el segundo libro de Charles Darwin; Jiménez-Pérez⁶, recopilan en su es-

tudio titulado "Registros nuevos de orquídeas de los bosques montanos de Bolivia" una lista de géneros, especies y una breve descripción morfológica, distribución, entre otros. En el Ecuador, Pazmiño⁷, caracterizó de forma morfológica las semillas y su proceso germinativo en seis especies de orquídeas (Ada andreettae, Cyrtochilum tricostatum, Epidendrum arachnoglossum, Helcia sanguinolenta, Prosthechea fragrans, Scuticaria salesiana), amenazadas de Loja. Existen otros estudios realizados sobre orquídeas en el Ecuador respecto a cultivo de tejidos, conservación y más; sin embargo se encuentran escasamente descritas, en especial sobre la morfología de semillas⁷. Endara, León-Yánez, & Norris⁸ en su reporte sobre conservación de orquídeas de Ecuador, mencionan como prioridades taxonómicas y curacionales entre otros, a los géneros Elleanthus, Odontoglossum y Epidendrum.

La presente investigación describe la morfología de la semilla de tres especies de orquídeas (*Elleanthus capitatus*, *Epidendrum frutex y Odontoglossum hallii*), almacenadas en el Banco de germoplasma de Orquídeas del Ecuador Fase I – UPS, con el fin de facilitar su identificación y su conservación. Las tres especies están catalogadas como nativas del Ecuador, *Elleanthus capitatus* es una planta epífita herbácea que crece

 $^{^{\}rm 1}$ Grupo de Investigación BIOARN. Universidad Politécnica Salesiana. Quito-Ecuador.

desde entre 0-3500 msnm, *Odontoglossum hallii* es también una planta epífita herbácea que se encuentra entre los 2000 y 3500 msnm; y, *Epidendrum frutex* es una planta herbácea, que se desarrolla desde los 2500 hasta los 3500 msnm⁹.

Metodología

Las semillas de *Elleanthus capitatus*, *Epidendrum frutex y Odontoglossum hallii* fueron recolectadas en cápsulas para el Proyecto Banco de Germoplasma de la Universidad Politécnica Salesiana, y se colocaron en un desecador con silica gel por un período de 15 días con el fin de reducir la humedad para su mejor conservación.

Para determinar la morfología de las semillas de orquídeas se colocaron aleatoriamente 20 semillas de cada especie en un portaobjetos y se observó bajo el microscopio con el lente 40X. Mediante el programa MEASURE instalado en el microscopio, se midió en milímetros la longitud de las semillas desde el ápice hasta la base y el mayor diámetro de extremo a extremo. Todas las muestras fueron fotografiadas durante el proceso de medición (Figura 1).

Figura 1. Medición de longitud y diámetro de las semillas de las tres especies de orquídeas, vistas bajo el microscopio

Especie	Medición de diámetro	
Elleanthus capitatus		
Odontoglossum hallii		
Epidendrum frutex		

Además, se pesó un miligramo de semillas sobre un portaobjetos, las cuales fueron cuantificadas bajo el microscopio, con la finalidad de determinar el número de semillas en un miligramo, en cada especie de orquídea. La forma de las semillas fue descrita y comparada con los gráficos publicados por Clifford & Smith¹⁰ citado por Baskin & Baskin¹¹, y Beer¹².

Se evaluó el color del embrión en las semillas usando como referencia una escala colorimétrica, según ésta a cada color se le otorgó un código numérico. El color fue definido en función del modelo de color RVA (RGB en inglés), que está basado en la composición del color según intensidad de los colores primarios de la luz¹³; a continuación, se describe cada color, se le otorgó el número 1 (color verde), el número 2 (color verde olivo) y el número 3 (color verde claro) (Tabla 1).

Tabla 1. Análisis de color en las semillas de orquídeas.

Denominación	N°	Color	Código RVA		
del Color			Rojo	Verde	Azul
Verde	1		42	102	32
Verde olivo	2		142	151	21
Verde claro	3		212	219	123

Resultados y discusión

Es necesario resaltar que la descripción que se realiza a continuación es uno de los primeros reportes, respecto a la morfología de las semillas de las especies Elleanthus capitatus, Odontoglossum hallii y Epidendrum frutex. Pocas investigaciones se han desarrollado, sobre descripción de semillas de orquídeas en Ecuador, debido a que las semillas son diminutas, por lo que el análisis de su estructura se dificulta14. Se han realizado estudios sobre la morfología y biología de las orquídeas en los géneros Acanthophippium, Acropera, Aerides, Brassia, Calasetum, Cattleya, Laelia, Cycnoches, Cyrtochilum, Dendrobium, Epidendrum, Eulophia, Gongora, Leptotes, Maxillaria, Lycaste, Octomeria, Oncidium, Phajus, Promenaea, Stanhopea, Vanilla y Zygopetalum¹²; de forma específica estudios de morfometría en semillas de orquídeas nativas de América del norte en los géneros Cypripedium y Paphiopedilum¹⁴, Calypso, Cephalanthera, Corallorhiza y Epipactis¹⁵, Goodyera, Piperia, Platanthera y Spiranthes¹⁶; también morfometría en semillas de 32 especies de orquídeas del Himalaya occidental pertenecientes a los géneros Cypripedium, Goodyera, Spiranthes, Androcorys, Brachycorythis, Dactylorhiza, Dithrix, Habenaria, Herminium, Pecteilis, Peristylus, Platanthera, Satyrium, Epipactis, Gastrodia, Crepidium, Liparis, Oreorchis, Cymbidium, Eulophia, Eria, Gastrochilu y Rhynchostylis¹⁶. Además, existen estudios específicos de diferentes géneros y especies de orquídeas propias de los Andes, sin embargo no describen la morfología de las semillas^{18, 19, 20}.

Para las semillas de las especies *Elleanthus capitatus*, *Odontoglossum hallii y Epidendrum frutex*, se realizó un análisis de los valores obtenidos para las variables longitud y diámetro de las semillas y número de semillas por miligramo, se encontró que existió diferencia significativa para la longitud y el peso entre las especies (p=<0,0001) con un coeficiente de variación de 8,37 y 11,47 respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Promedio (±) el error estándar de longitud y diámetro de las semillas y número de semillas por miligramo para las tres especies de orquídeas.

*Diferencia significativa. Diferentes letras presentan diferencia significativa.

Especie	Longitud (mm) *	Diámetro (mm)	Semillas/mg *
Elleanthus capitatus	0,28 <u>+</u> 0,01 a	0,06 <u>+</u> 0,01 a	982,5 <u>+</u> 18,72 a
Odontoglossum hallii	0,60 <u>+</u> 0,01 b	0,08 <u>+</u> 0,01a	739,7 <u>+</u> 18,72 b
Epidendrum frutex	0,56 <u>+</u> 0,01 b	0,07 <u>+</u> 0,01a	702,75 <u>+</u> 18,72b

En la evaluación de las semillas de *Odontoglossum hallii* y *Epidendrum frutex* se encontró que fueron similares según las variables longitud, diámetro y peso; mientras que, las semillas de *Elleanthus capitatus* presentaron un tamaño menor y fueron significativamente diferentes en longitud y peso; sin embargo, se observa también, que no existió diferencia significativa en el diámetro de las tres especies. Al comparar los promedios de las variables se evidencian amplios rangos en longitud, que varió desde 0,28 a 0,60 mm y en número de semillas por miligramo, desde 702,75 a 982,5 (Tabla 2). Lo observado concuerda con Baskin & Baskin¹¹, pues como se puede apreciar el tamaño de las semillas en general es minúsculo, una característica que todas las orquídeas comparten; sin embargo se observa también la diferencia en longitud y peso entre las especies,

tal como se esperaba ya que existe mucha variación entre las orquídeas respecto al tamaño, colores, estructura, forma de la semilla, entre otros (Arditti et al., 1979). El peso de las semillas de las tres especies varió entre 1 a 1,42 ug. Baskin & Baskin¹¹, indican que el rango de peso puede variar entre 0,3 y 14 ug dependiendo de la especie, y esto se debe a la falta del endospermo.

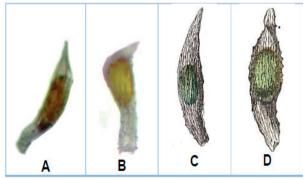
Elleanthus capitatus

Elleanthus capitatus (Poepp. & Endl.) Rchb. f., es aceptada también como Elleanthus cynarocephalus (Rchb. f.) Rchb. f.y Evelyna capitata Poepp. & Endl.; además, es conocida con los siguientes sinónimos Bletia capitata R. Br., Elleanthus casapensis (Rchb. f.) Rchb. f., Elleanthus cephalophorus (Rchb. f.) Rchb. f., Elleanthus zamorensis Garay, Evelyna capitata Poepp. & Endl., Evelyna casapensis Rchb. f. y Evelyna cephalophora Rchb. f.9

Para Elleanthus capitatus la semilla presentó una longitud desde 0,231 a 0,362 mm, resultando un promedio de 0,28 mm, la medición del diámetro varió entre 0,054 a 0,079 mm con un promedio de 0,06 mm. La semilla de esta especie es la que presentó el menor peso individual, con un peso aproximado de 1,017 ug, obtenido del promedio del total de semillas contabilizadas en un miligramo (982,5 semillas/mg).

La semilla es alargada, su largo en 4,7 veces su diámetro, la forma es ensanchada en el centro con un extremo puntiagudo y el otro extremo cuadrado, esta forma fue comparada con las figuras número 37 (*Epidendrum cochleatum*) y 46 (*Epidendrum lancifolium*) del gráfico de formas de semillas tomado de Beer¹², de la tabla III de ilustraciones (Figura 2). La variable de color vista bajo el microscopio obtuvo un promedio de color de 1,8 lo que significa que su color predominante es verde olivo (Tabla 1).

Figura 2. Semillas de Elleanthus capitatus. A y B: fotografías de Elleanthus capitatus. C y D: Figuras del gráfico de formas de semillas tomado de tabla III de ilustraciones de Beer¹².

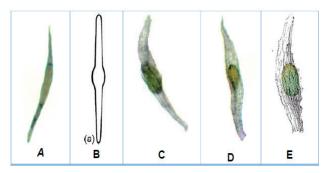


Odontoglossum hallii

Esta especie tiene como sinónimo *Oncidium hallii*⁸. Respecto a la longitud de la semilla de *Odontoglossum hallii*, se encontró un promedio de 0,6 mm obtenido de semillas cuya longitud varió entre 0,536 y 0,702 mm. El diámetro se encontró en un rango de 0,075 a 0,124 mm, obteniéndose un promedio de 0,08 mm. En un miligramo de semilla de *Odontoglossum hallii* se cuantificaron en promedio 739,7 semillas, concluyendo que el peso individual promedio de una semilla es de 1,35 ug.

El largo de la semilla es 7,5 veces su diámetro, su forma es engrosada en el centro y ambos extremos terminan en una punta fina (Figura 3), por lo que se le comparó con una de las cinco formas básicas pertenecientes a las tribus Epidendreae y Neottieae descritas por Clifford & Smith¹⁰ citados por Baskin & Baskin¹¹. La semilla observada bajo el microscopio presentó un promedio de color 3, indicando un color verde claro (Tabla 1).

Figura 3. Semillas de *Odontoglossum hallii y Epidendrum frutex*. A: fotografía de *Odontoglossum hallii*. B: Figura básica por Clifford & Smith¹⁰. C y D: fotografías de *Epidendrum frutex*. E: Figura número 21 del gráfico de formas de semillas tomado de tabla IV de ilustraciones Beer¹².



Epidendrum frutex

Conocida también por su sinónimo *Epidendrum orthocaule*⁹. Las semillas de *Epidendrum frutex* presentaron una longitud variable entre 0,421 a 0,670 mm, resultando un promedio de 0,56 mm; mientras que el diámetro presentó medidas entre 0,046 a 0,095 mm, dando como promedio 0,07 mm, similar a *Odontoglossum hallii*. El peso individual de la semilla obtenido del promedio de semillas en un miligramo (702,75), fue de 1,42 ug. Se hace evidente la gran diversidad existente en orquídeas, al comparar la longitud máxima encontrada en las semillas de *Epidendrum frutex* (0,67 mm) con una orquídea híbrida perteneciente al género *Epidendrum* cuya longitud alcanza hasta 3,85 mm en la semilla^{10,11} siendo esta última casi seis veces la longitud de *Epidendrum frutex*.

La forma de las semillas es alargada y ensanchada en el centro, su forma fue cotejada con las figuras básicas desarrolladas por Clifford & Smith¹0 y con la figura número 21 del gráfico de formas de semillas tomado de la tabla IV de ilustraciones de Beer¹². La semilla de *Epidendrum frutex* es similar a la semilla de *Epidendrum ciliare* conforme a las ilustraciones¹² debido a que las semillas de ambas especies son largas con una terminación puntiaguda y otra cuadrada (Figura 3). El color percibido bajo el microscopio fue verde; evaluado con un promedio de 1, obtenido durante las observaciones (Tabla 1).

Conclusiones

Al realizar la descripción morfológica y morfométrica de las semillas de tres especies de orquídeas del Ecuador, mediante la descripción de su forma, peso, longitud, diámetro y color, se encontró diferencia significativa entre las especies, resultando Elleanthus capitatus diferente a Epidendrum frutex y Odontoglossum hallii, en las variables longitud y peso de la semilla.

Elleanthus capitatus es la especie que menor longitud y diámetro promedio de semilla presentó con 0,28 mm y 0,06 mm respectivamente, el peso promedio de la semilla fue de 1,017 ug. Mientras que las semillas de Epidendrum frutex presentaron una longitud y diámetro promedio de 0,56 mm y 0,07 mm respectivamente, su peso promedio fue 1,42 ug. Odontoglossum hallii presentó mayor longitud y diámetro promedio de semilla, con 0,6 mm y 0,08 mm respectivamente,

y su peso fue de 1,35 ug.

Agradecimientos

Se agradece al Ministerio del Ambiente del Ecuador (MAE) por la Autorización de investigación científica N° 08-2013-0869-IC_FAU-FLO-DAPI-UNO-MAE emitida para la ejecución del proyecto "Banco de germoplasma de Orquídeas del Ecuador Fase I (sección Cotacachi-Cayapas)" otorgado al Doctor Marco Fernando Cerna Cevallos, y a la Universidad Politécnica Salesiana por destinar fondos para el mencionado proyecto.

Referencias bibliográficas

- Diazgranados, M., Hernández, D., Tobar, L., & Sánchez, P. (2015). ORQUÍDEAS: SEXO, PASIÓN E INVESTIGACIÓN 48. Revista Innovación y Ciencia, 22(1–2015). Recuperado a partir de https://www.researchgate.net/profile/Mauricio_Diazgranados/publication/302364263_Orquideas_sexo_pasion_e_i.
- Morales, C. O. (2005). SOBRE UN OPUS MAGNUM DE LA ORQUIDEOLOGÍA NEOTROPICAL: HÁGSATER, E. & SÁNCHEZ SALDAÑA, L. (EDS.). 2004. ICONES ORCHIDACEARUM, FASC. 7, THE GENUS EPIDENDRUM, PART 4. "A FOURTH CENTURY OF NEW SPECIES IN EPIDENDRUM". Lankesteriana International Journal on Orchidology, 5(1). Recuperado a partir de http://www. redalyc.org/articulo.oa?id=44339807011
- 3. Endara, L., León Yánez, S., & Norris, W. (2008). Panorama de conservación de orquídeas en la región andina: El caso de estudio de las orquídeas de Ecuador. Presentado en Plano de Ação para orquídeas amenazadas no Brasil., Jardín Botánico de Río de Janeiro, Brasil. Recuperado a partir de https://www.flmnh.ufl.edu/ecuadororchids/Cores_Brasil.pdf
- Patzelt, E. (1996). FLORA DEL ECUADOR. Recuperado a partir de http://patzelt-ecuador.de/html/flora1.html
- 5. Singer, R. (2009). MORFOLOGÍA FLORAL Y POLINIZACIÓN DE ORQUÍDEAS: EL SEGUNDO LIBRO DE CHARLES DARWIN. Recuperado a partir de http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v14s1/v14n4a21.pdf
- Jiménez-Pérez, I. (2011). Registros nuevos de orquídeas de los bosques montanos de Bolivia. Parte I. Ecología en Bolivia, 46, 57–61.
- Pazmiño, R. (2011). Caracterización morfológica de semillas y del proceso germinativo de seis especies de orquídeas amenazadas en la provincia de loja para la conservación en el banco de germoplasma de la UTPL. Recuperado a partir de http://repositorio.uta.edu. ec/jspui/handle/123456789/1921

- Endara, L., León Yánez, S., & Norris, W. (2007). Patrones de endemismo de orquídeas ecuatorianas: Perspectivas y prioridades para la conservación. Presentado en Second Scientific Andean Orchid Conference, Loja, Ecuador. Recuperado a partir de https://www.flmnh.ufl.edu/ecuadororchids/Andean_Conference_Loja.pdf
- 9. Tropicos.org. (2017, c). Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. Recuperado el 18 de abril de 2017, a partir de http://www.tropicos.org/Project/CE
- 10. Clifford, H., & Smith, W. (1969). Seed morphology and classification of Orchidaceae. Phytomorphology, 19, 133–139.
- 11. Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (2001). Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. Elsevier.
- Beer, J. G. (1863). Beiträge zur morphologie und biologie der familie der orchideen. Von J. G. Beer. Wien: C. Gerold's Sohn, Recuperado a partir de http://www.biodiversitylibrary.org/item/91634
- Delgado, J. M. (2002). Photoshop 7. España. Recuperado a partir de https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=318316
- Arditti, J., Michaud, J. D., & Healey, P. L. (1979). Morphometry of Orchid Seeds. I. Paphiopedilum and Native California and Related Species of Cypripedium. American Journal of Botany, 66(10), 1128–1137. https://doi.org/10.2307/2442211
- Arditti, J., Michaud, J. D., & Healey, P. L. (1980). Morphometry of Orchid Seeds. II. Native California and Related Species of Calypso, Cephalanthera, Corallorhiza and Epipactis. American Journal of Botany, 67(3), 347–360. https://doi.org/10.2307/2442345
- 16. Healey, P. L., Michaud, J. D., & Arditti, J. (1980). Morphometry of Orchid Seeds. III. Native Claifornia and Related Species of Goodyera, Piperia, Platanthera and Spiranthes. American Journal of Botany, 67(4), 508–518. https://doi.org/10.2307/2442290
- Verma, J., Sharma, K., Thakur, K., Sembi, J. K., & Vij, S. P. (2014).
 Study on seed morphometry of some threatened Western Himalayan orchids. TURKISH JOURNAL OF BOTANY, 38(2), 234–251.
- 18. Hágsater, E. (2004). The Genus Epidendrum: Part 4 "A Fourth Century of New Species in Epidendrum"; Icones Orchidacearum. Recuperado a partir de http://www.academia.edu/5825934/The_ Genus_Epidendrum_Part_4_A_Fourth_Century_of_New_Species_in_Epidendrum_
- Meisel, J. E., & Woodward, C. L. (2005). Andean Orchid Conservation and the Role of Private Lands: A Case Study from Ecuador. Selbyana, 26(1/2), 49–57.
- 20. Kolanowska, M., & Mystkowska, K. (2014). A new species of Epidendrum (Orchidaceae) from Panama. Polish Botanical Journal, 59(2), 181–183.

Recibido: 1 septiembre 2017 Aprobado: 20 diciembre 2017