

CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

INVESTIGACIÓN

Caracterización morfométrica de semillas de cuatro especies de orquídeas terrestres nativas de Argentina

Lallana, Víctor Hugo*; Di Persia, Juan Francisco*

Resumen

Las semillas de orquídeas, aunque producidas en abundancia, son muy pequeñas y extremadamente livianas. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar morfométricamente las semillas de cuatro especies de orquídeas terrestres, *Cyclopogon elatus* (Sw.) Schltr; *Bipinnula pennicillata* (Rchb. f.) Sisternas & Salazar; *Chloraea membranacea* Lindl. y *Chloraea philippii* Rchb. f. Las mediciones de la semilla y el embrión se realizaron sobre las microfotografías digitales. Para el cálculo del volumen de las semillas y del embrión se utilizaron fórmulas geométricas. Las semillas presentaron, en general, forma ahusada a levemente ahusada, tanto alargadas como truncadas, con colores del pardo oscuro a amarillo y sus volúmenes variaron entre 0,01 mm³ (*C. philippii*) y 0,001 mm³ (*C. elatus*). La estructura de la testa es reticulada para todas las especies, excepto para *C. elatus* siendo ésta estriada. *C. philippii* es la que presentó el mayor porcentaje de aire (85,72%), mientras que *C. membranacea*, el menor (42,61%).

Palabras clave: Orquídeas terrestres; Semillas; Morfometría

Este artículo se origina en el marco de un Proyecto de Investigación y Desarrollo PID-UNER 2172 (2014-2017). Presentado el 01/02/2018 y admitido el 06/07/2018.

Autores: Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Entre Ríos.

Contacto: victorl@fca.uner.edu.ar



Morphometric characterization of seeds of four species of terrestrial orchids native to Argentina

The orchid seeds, although produced in abundance, are very small and extremely light. The objective of the present work was to morphometrically characterize the seeds of four species of terrestrial orchids, *Cyclopogon elatus* (Sw.) Schltr; *Bipinnula pennicillata* (Rchb. f.) Sisternas & Salazar; *Chloraea membranacea* Lindl. and *Chloraea philippii* Rchb. f. The measurements of the seed and the embryo were made on the digital microphotographs. For the calculation of the volume of the seeds and the embryo, geometric formulas were used. The seeds presented, in general, a taper to a slightly tapered shape, both elongated and truncated, with colors from dark brown to yellow and their volumes varied between 0.01 mm³ (*C. philippii*) and 0.001 mm³ (*C. elatus*). The structure of the testa is reticulated for all species, except for *C. elatus*, which is striated. *C. philippii* was the one that presented the highest percentage of air (85.72%), while *C. membranacea*, the lowest (42.61%).

Keywords: Terrestrial orchids; Seeds; Morphometry

Caracterização morfométrica de sementes de quatro espécies de orquídeas terrestres nativas da Argentina

Resumo

As sementes de orquídeas, embora produzidas em abundância, são muito pequenas e extremamente leves. O objetivo deste trabalho foi caracterizar morfometricamente as sementes de quatro espécies de orquídeas terrestres, *Cyclopogon elatus* (Sw.) Schltr; *Bipinnula pennicillata* (Rchb. f.) Sisternas & Salazar; *Chloraea membranacea* Lindl. e *Chloraea philippii* Rchb. f. As medições da semente e do embrião foram feitas nas microfotografias digitais. Para o cálculo do volume das sementes e do embrião foram utilizadas fórmulas geométricas. As sementes apresentaram, em geral, formato fusiforme a levemente fusiforme, sendo tanto alongadas como truncadas, com cores do castanho-escuro ao amarelo e seu volume variou entre 0,01 mm³ (*C. philippii*) e 0,001 mm³ (*C. elatus*). A estrutura da testa é reticulada para todas as espécies, com exceção de *C. elatus* que é estriada. *C. philippii* apresentou o percentual de ar mais alto (85,72%), enquanto *C. membranacea*, o mais baixo (42,61%).

Palavras-chave: Orquídeas terrestres; Sementes; Morfometria

I. Introducción

Las orquídeas componen una de las familias botánicas más numerosas de las plantas con flor. Dada la elegancia de sus flores y su perdurabilidad poseen un alto valor ornamental, llevando así a ser fuertemente demandadas. Las semillas de orquídeas se caracterizan por ser muy pequeñas (1-2 mm de largo y 0,5-1 mm de ancho), carecen de endosperma, presentan sólo una testa y un embrión inmaduro (Pierik, 1990; Arditti y Ernst, 1993). Se producen en grandes cantidades por cápsulas, por ejemplo, un fruto maduro de *Gomesa bifolia* (Sims) M.W. Chase y N.H. Williams, puede contener hasta 1.178.100 semillas (Lallana *et al.*, 2010) lo cual dificulta su estudio y descripción y son las más pequeñas del reino vegetal (Rasmussen, 1995). En el marco de un proyecto de investigación Conservación de orquídeas nativas de Entre Ríos utilizando técnicas de cultivo de tejidos «in vitro», se ha creado un Banco de Germoplasma de semillas de orquídeas (BGO), cuyo catálogo de accesión a noviembre de 2014 contaba con 304 registros, de los cuales hay 73 especies (sin repetir) y 50 híbridos. 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. Trabajos previos han permitido avanzar en la organización del BGO (De La Cruz y Lallana, 2012, Schimpf y Lallana, 2013a), en la descripción de semillas de orquídeas epífitas del litoral argentino considerando aspectos morfológicos y botánicos, donde se describe longitud, ancho, relación largo: ancho, volumen, color y forma de semilla y embrión (Schimpf y Lallana, 2013b) y en estudios de viabilidad y longevidad (Lallana y García 2012, Lallana y García, 2013 y Dalzoto y Lallana, 2013). Existe poca información y descripción de las semillas de orquídeas terrestres argentinas, en tal sentido Chemisquy *et al.* (2009) mencionan que desde 1995 no se han hecho análisis en semillas de *Chloraeaceae* y en su trabajo analiza la morfología de la semilla relacionándola con su filogenia, estudiando las especies *Geoblasta pennicillata* (Rchb. f.); *Chloraea membranacea* (Lindl.) y *Chloraea philippi* (Rchb. f.), entre otras. Arditti y Ghani (2000) indican que se han realizado pocos estudios sobre el volumen de aire de las semillas de orquídeas, cuestión que interesa por las implicancias en la dispersión.

Los estudios sobre morfología de semillas tan pequeñas, como las orquídeas, resultan de utilidad para resolver problemas de taxonomía, filogenia, fitogeografía y biología de las semillas (Augustine *et al.*, 2001).

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar botánica y morfométricamente las semillas de cuatro especies de orquídeas terrestres de Argentina.

II. Materiales y métodos

Se utilizaron muestras de semillas almacenadas en heladera ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) provenientes del BGO de la Facultad de Ciencias Agropecuarias - UNER de las siguientes especies geófitas de la familia Orchidaceae, subfamilia Orchidoideae: *Cyclopogon elatus* (Sw.) Schltr.; *Bipinnula pennicillata* (Rchb. f.) Sisternas y Salazar; *Chloraea membranacea* Lindl. y *Chloraea philippii* Rchb. f.

Tabla 1. Ubicación taxonómica de las cuatro especies de orquídeas estudiadas, y lugar y fecha de recolección de muestras

Especie	Tribu	Subtribu	Sitio de recolección	Fecha de recolección	Cantidad de frutos/espigas
<i>Bipinnula pennicillata</i>	Chloraeae	Chloraeinae	Jardín Botánico Oro Verde	30/10/2012	2 Frutos
<i>Chloraea membranacea</i>			Paraje La Virgen, Entre Ríos	27/11/2012	4 Espigas
<i>Chloraea philippii</i>			Trevelín, Chubut	25/01/2013	6 Frutos
<i>Cyclopogon elatus</i>	Cranichideae	Spiranthinae	Paraná, Entre Ríos	19/10/2012	2 Espigas

De cada muestra se tomó una pequeña alícuota con espátula de acero inoxidable y se colocó sobre papel de acetato impreso con escala milimetrada, montado sobre una platina de acetato translúcida. Luego, sobre el dispositivo de montaje de las muestras, se tomaron entre 20 y 40 microfotografías mediante Microscopio Digital Manual «Supereyes» (10X a 200X). Se utilizó una ampliación equivalente a 160 aumentos. Las mediciones de la semilla y del embrión (de sus ejes mayores y menores) se realizaron sobre las microfotografías digitales, mediante el software de código abierto de dominio público ImageJ (Ferreira y Rasband, 2012), para lo cual, primeramente en cada imagen se determinó la escala correspondiente tomando como referencia la escala milimetrada presente en el papel de acetato. A través de este procedimiento el software establece la escala equivalente en píxeles y, cuando se hacen las mediciones, transforma los píxeles de la imagen en medidas de mm, almacenando la información en una tabla de doble entrada, que luego es procesada con una planilla tipo Excel®. Con el mismo software (ImageJ), utilizando imágenes de un pool de semillas, se determinó el color en valores RGB (Red, Green, Blue), a partir de 5 mediciones por especie y su valor medio.

Para el cálculo de las dimensiones físicas de la semilla y embrión se utilizaron las ecuaciones propuestas por Arditti (1979), para el volumen de las semillas se utilizó $2[(A/2)^2 \cdot (l/2) \cdot (1,047)]$, donde A= ancho; l= longitud; 1,047= $\pi/3$ la cual considera las semillas de orquídeas como fusiformes (ahusadas). Para el cálculo del volumen del embrión se los consideró como esferoides alargados, determinando su volumen con la fórmula $4/3 \pi ab^2$, donde a = 0,5 longitud y b = 0,5 ancho. Semillas con relación Largo / Ancho (L/A) menores a 6,0 se clasificaron como truncadas y las mayores a 6,0 como elongadas, de acuerdo a Verma et al. (2014). El porcentaje de aire de la semilla se obtuvo restando el volumen de la semilla al volumen del embrión y dividiendo este valor por el volumen de la semilla por 100 (Arditti, 1979).

Se utilizó estadística descriptiva para todas las variables medidas y calculadas, utilizando el software Infostat (Di Rienzo et al., 2012). Se confeccionaron gráficas de cajas (box-plot) para la relación largo/ancho, volumen de semillas y embriones y espacio de aire de las semillas. Se realizó análisis de varianza y se aplicó el test de Tukey ($p < 0.05$ %) para la comparación de medias.

III. Resultados

Las semillas estudiadas y sus embriones varían en forma, color, tamaño y relaciones largo/ancho (**tablas 2, 3 y 4**). Presentan en general forma ahusada a levemente ahusada, con colores que van del pardo amarillento a pardo oscuro (**Tabla 4**) y sus volúmenes varían entre $0,01 \text{ mm}^3$ y $0,001 \text{ mm}^3$.

Cyclopogon elatus: la semilla presenta forma alargada, levemente ahusada a alargada, extremos agudos, coloración levemente amarillenta, testa estriada (**Figura 1a**). Embrión de color verde, contrastante, ocupando un 14% del volumen de la semilla.

Bipinnula pennicillata: la semilla presenta forma alargada, ahusada, color pardo claro, un extremo agudo y otro truncado, testa traslúcida y paredes celulares en red o reticulada (**Figura 1b**). El embrión es de color pardo oscuro, de difícil delimitación, ovalado y ocupa un 39% del volumen de la semilla.

Chloraea membranacea: la semilla presenta forma truncada, levemente ahusada, con una relación Largo/ Ancho de 2,7, siendo esta la menor de las estudiadas, con un extremo truncado y el otro levemente aguzado, testa traslúcida, color pardo, con paredes celulares en forma de red (**Figura 1c**). El embrión de color pardo oscuro, levemente traslúcido, ovado ocupa un 57% del volumen de la semilla, siendo éste el de mayor proporción.

Chloraea philippii: la semilla posee forma truncada, ahusada, color amarillento, con un extremo agudo y otro truncado, testa transparente con paredes

celulares en red de color pardo y brillo perlado (**Figura 1d**). El embrión de color amarillo, ovado, ocupa un 14 % del volumen de la semilla.

Respecto al tamaño de las semillas y de acuerdo a la clasificación propuesta por Bartlott *et al.*, 2014, *C. membranacea* es pequeña (200 a 500 μm) y el resto de las especies mediana (500 a 900 μm) y la forma de las células de la testa en *B. pennicillata* son alargadas pero redondeadas en los extremos y en el resto son células alargadas en el eje longitudinal de la semilla y extremo recto (**Tabla 4**).

Tabla 2. Valores promedio de las dimensiones físicas de semillas de *B. pennicillata*, *C. elatus*, *C. membranacea* y *C. philippii*

Especie	Semilla					
	N	Largo (mm)	Ancho (mm)	Rel L/A	Volumen (mm ³)	Volumen de aire (%)
<i>Chloraea membranacea</i>	17	0,395	0,145	2,72 a	0,00219 ab	42,61 a
<i>Chloraea philippii</i>	22	0,782	0,226	3,46 a	0,01042 c	85,72 c
<i>Cyclopogon elatus</i>	18	0,690	0,091	7,61 b	0,00148 a	46,54 a
<i>Bipinnula pennicillata</i>	23	0,805	0,124	6,50 c	0,00323 b	60,65 b

Medias con una letra común, en sentido de las columnas, no son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Tabla 3. Valores promedio de las dimensiones físicas de embriones de *B. pennicillata*, *C. elatus*, *C. membranacea* y *C. philippii*

Especie	Embrión				
	n	Largo (mm)	Ancho (mm)	Rel L/A	Volumen (mm ³)
<i>Chloraea membranacea</i>	17	0,163	0,121	1,342 a	0,00125 ab
<i>Chloraea philippii</i>	22	0,208	0,117	1,784 a	0,00149 b
<i>Cyclopogon elatus</i>	18	0,201	0,086	2,321 b	0,00079 a
<i>Bipinnula pennicillata</i>	23	0,247	0,099	2,486 b	0,00127 ab

Medias con una letra común, en sentido de las columnas, no son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Tabla 4. Colores del «pool» de semillas de orquídeas, tamaño, tipo y forma de las células de la testa

Especie	Valor RGB	Color	Tamaño	Testa	Forma Cel. Testa
<i>Bipinnula pennicillata</i>	45; 40 ; 29		medio	R	3
<i>Chloraea membranacea</i>	51; 44; 36		pequeñas	R	2
<i>Chloraea philippii</i>	112; 76; 44		medio	R	2
<i>Cyclopogon elatus</i>	147; 129; 80		medio	R-E	2

Referencias: R, testa reticulada; E, estriada. Forma de las células de la testa (Barthlott et al., 2014):

1. Células isodiamétricas; 2. Células alargadas en el eje longitudinal de la semilla y extremo recto;
3. Células alargadas pero redondeadas en los extremos

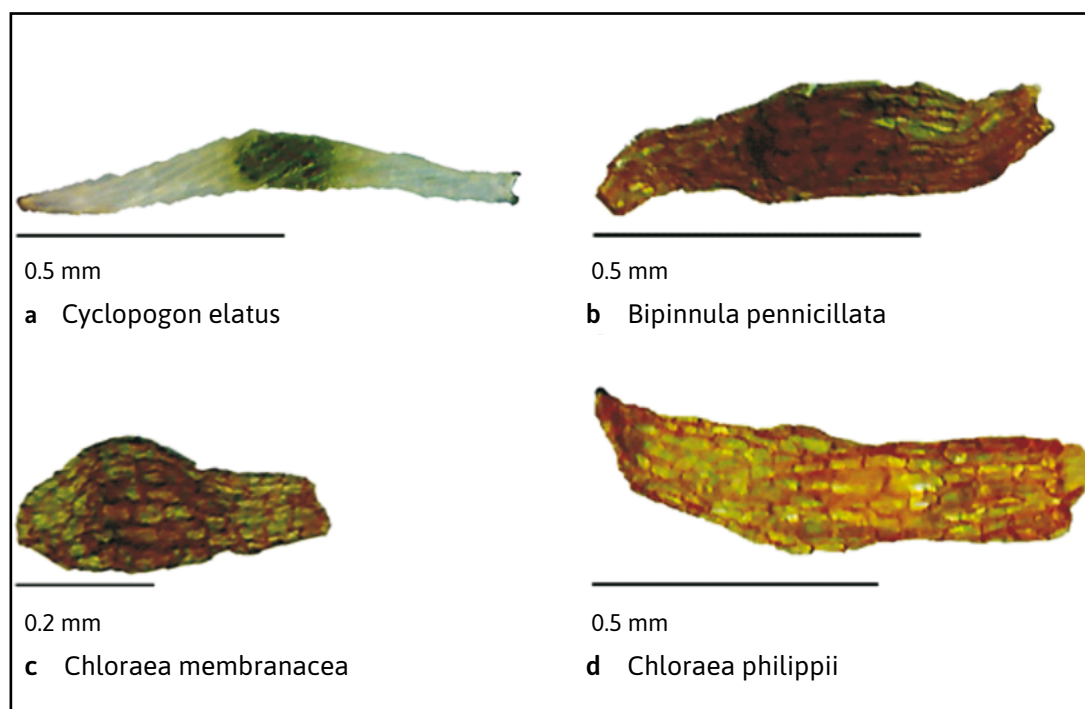


Figura 1. Microfotografías de las semillas de orquídeas terrestres (a, b, c y d), donde se observa claramente la posición y tamaño del embrión ocupando la parte central y de color más oscuro de la imagen y la estructura reticulada de la testa en b, c y d

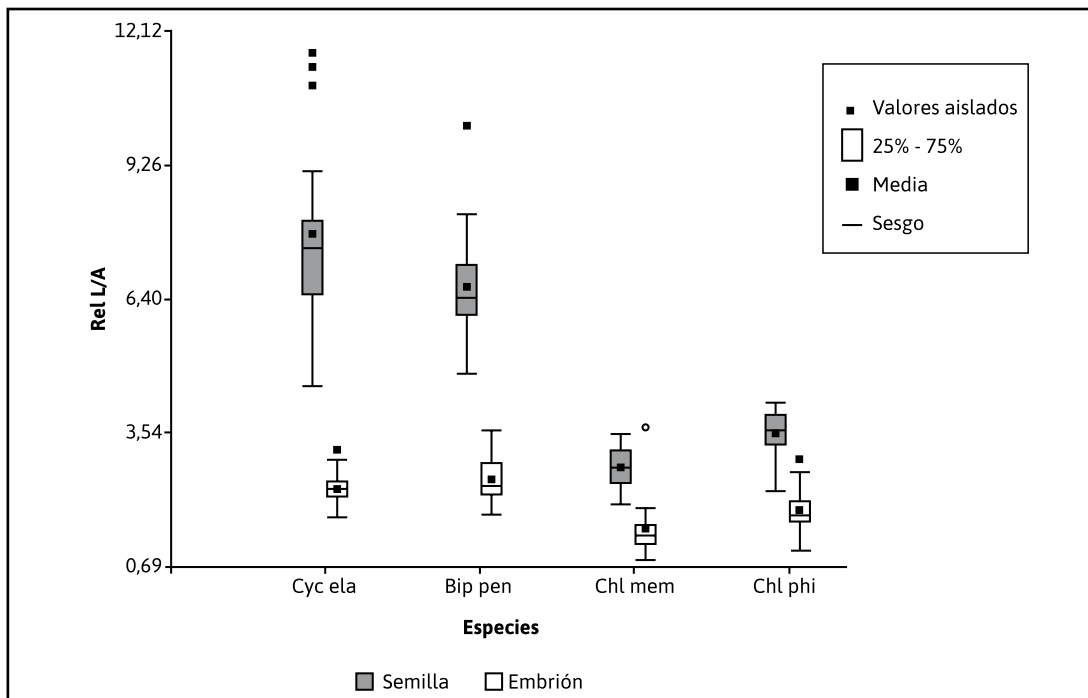


Figura 2. Gráfico de caja (box-plot) para la relación Largo / Ancho de semillas y embriones de 4 orquídeas terrestres. Cyc ela: *Cyclopogon elatus*; Bip pen: *Bipinnula pennicillata*; Chl mem: *Chloraea membranacea* y Chl phi: *Chloraea philippii*

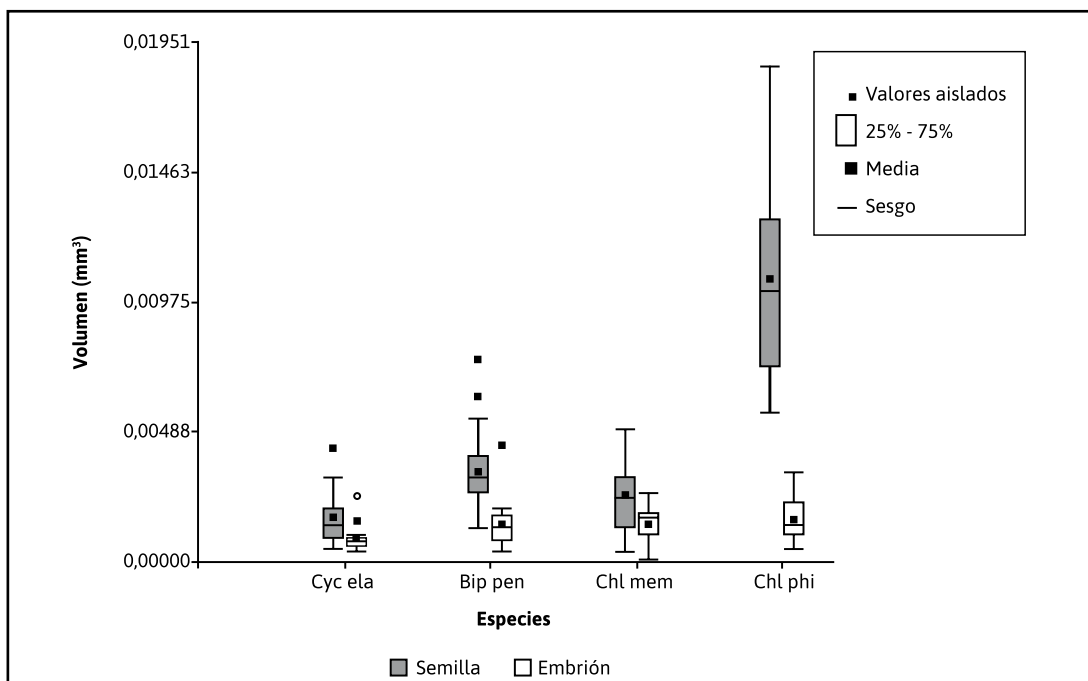


Figura 3. Gráfico de caja (box-plot) para el volumen de semillas y embriones de 4 orquídeas terrestres. Cyc ela: *Cyclopogon elatus*; Bip pen: *Bipinnula pennicillata*; Chl mem: *Chloraea membranacea* y Chl phi: *Chloraea philippii*

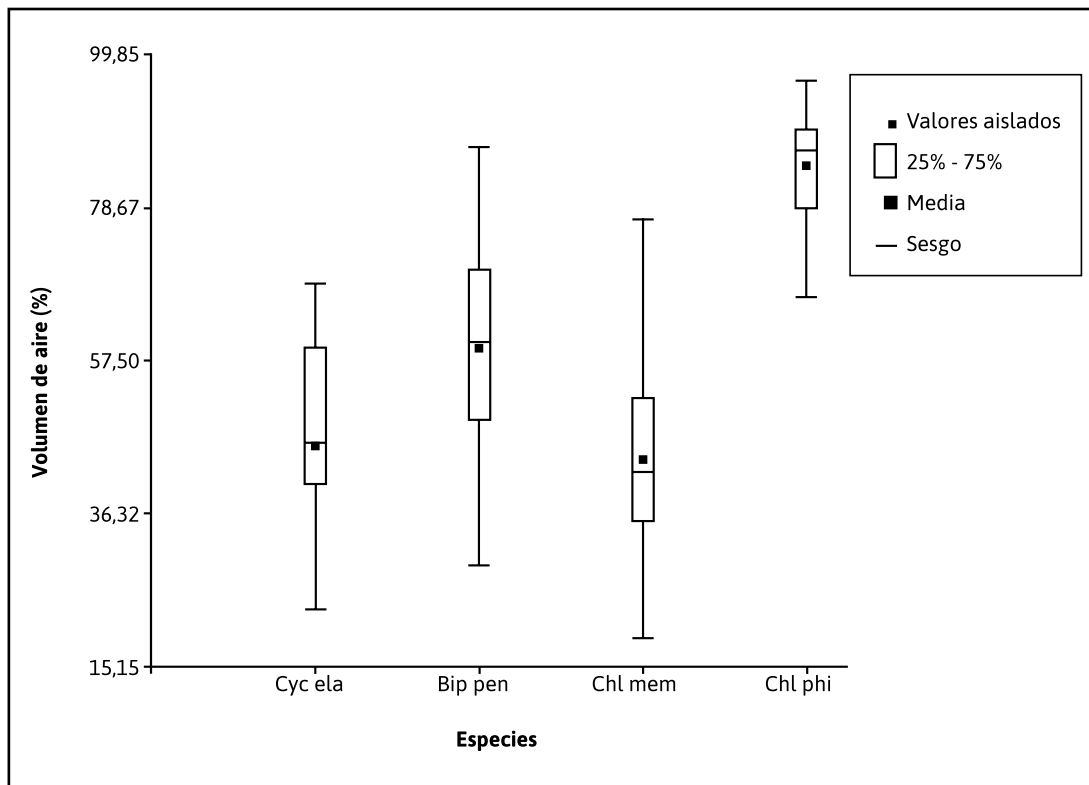


Figura 4. Gráfico de caja (box-plot) para el volumen de aire de las semillas de 4 orquídeas terrestres. Cyc ela: *Cyclopogon elatus*; Bip pen: *Bipinnula pennicillata*; Chl mem: *Chloraea membranacea* y Chl phi: *Chloraea philippii*

En la **Figura 2** se observan los valores medios de la relación largo/ancho (L/A) para cada especie, en este caso la diferencia significativamente mayor es la de *Cyclopogon elatus*, con un valor de 7,6, siendo ésta 2,8 veces mayor que la menor relación perteneciente a *Chloraea membranacea* (**Tabla 2**). *C. elatus* y *B. pennicillata*, son consideradas alargadas por su relación mayor a 6. Entre *C. membranacea* y *Chloraea philippii* no se encontraron diferencias significativas, siendo éstas las de menor relación y de tipo truncadas.

La relación L/A de los embriones presenta menor error estándar que la de semillas, siendo significativamente diferentes las dos especies del género *Chloraea*, las cuales presentan la menor relación (**Figura 2**). *C. elatus* corresponde a la más angosta y *C. membranacea* a la de menor longitud de las especies estudiadas.

De la longitud del eje mayor y menor de la semilla y embrión se calcularon sus volúmenes (**tablas 2 y 3**) y en la **Figura 3** se representan los valores medios, observándose que *C. philippii* ($0,01 \text{ mm}^3$) presenta el mayor volumen de semilla, con diferencias significativas con el resto, mientras que *B. pennicillata* ($0,0034 \text{ mm}^3$) y *C. membranacea* ($0,0025 \text{ mm}^3$) no presentan diferencias

significativas entre sí, la presenta *C. elatus* (0,0017 mm³) con *B. pennicillata*, las que son las de menor volumen.

El volumen de los embriones presentó 2,5 veces menor error estándar con respecto al de las semillas entre las diferentes especies. Al igual que en el volumen de semilla, *C. elatus* presenta el menor volumen de embrión y *C. philippii* es 1,8 veces mayor, presentando diferencia significativa entre ambas (**Tabla 3**).

En base a estos datos (**Tablas 2 y 3**) se calculó el porcentaje que ocupa el embrión en la semilla; *C. membranacea* posee la mayor proporción (57%) de la semilla ocupada por embrión; le sigue *C. elatus* con un 53% y *B. pennicillata* con un 39%. La especie con el embrión en relación a la semilla más pequeño corresponde a *C. philippii*, con tan solo un 14%, debido a que es la semilla significativamente más grande y el embrión no es significativamente mayor al resto, con excepción de *C. elatus*.

IV. Discusión

Las semillas son una parte fundamental del ciclo de la planta y de su dispersión depende la supervivencia de la especie. Tanto su morfología como peso, composición y estructura influyen en la capacidad de dispersión y viabilidad (Verma *et al.*, 2014).

De acuerdo a Arditti *et al.* (1980) y Augustine *et al.* (2001) la relación largo/ ancho (L/A) de semillas provee importante información en cuanto al grado de truncamiento de la semilla en orquídeas. Verma *et al.* (2014) las clasifican en alargadas a las semillas que poseen una relación L/A mayor a 6,0 y truncadas a las menores a este valor. El grado de truncamiento puede ser usado para diferenciar especies entre los generos *Aerides*, *Bulbophyllum*, *Coelogyne*, *Cymbidium* y *Eria* (Swamy *et al.*, 2004). En este trabajo se observan diferencias significativas entre los géneros analizados (**Tabla 2**), no existiendo entre las dos especies del genero *Chloraea*, pero sí dentro de la Tribu Chloraeae, donde *B. pennicillata* presenta un valor de 6,5 y *Cyclopogon elatus* un valor mayor (7,61) con diferencias significativas al resto de las especies.

Cuanto mayor es el volumen o espacio de aire de las semillas éstas presentan mayor flotabilidad, lo cual les brinda más facilidad para su dispersión anemócora (Arditti y Ghani, 2000). La especie con mayor espacio de aire, y semilla de mayor tamaño, fue *C. philippii* (86%), con diferencias significativas al resto de las especies. Le siguen *Bipinnula pennicillata* (61%), *Cyclopogon elatus* (47%) y *Chloraea membranacea* (43%), que presentó la menor propor-

ción de aire. A mayor volumen de la semilla se observa un mayor volumen de aire (**Tabla 2**).

De acuerdo a Healey *et al.* (1980), los embriones de las orquídeas tienden a ser uniformes de tamaño dentro de los géneros. Si bien otros autores (Swamy *et al.*, 2004) indican diferencias en el tamaño de los embriones de acuerdo al estado de desarrollo o madurez de las semillas. En este trabajo las semillas poseían embriones desarrollados y no se hallaron diferencias significativas en el volumen entre los géneros (**Tabla 3**).

En general las especies de hábito terrestre o que crecen en sustrato orgánico del bosque presentan colores más oscuros –pardo oscuro a claro– (*Bip_pen*, *Chl_mem*, *Chl_phi*, *Cyc_ela*) y las epífitas, en general, son de colores más claros con tonos amarillentos, amarillentos verdosos (Schimpf y Lallana, 2013b).

En las especies estudiadas, la cubierta seminal o testa es hialina y permitió observar claramente el embrión bajo lupa o microscopio. No obstante debe considerarse que algunos géneros de orquídeas como *Apostasia*, *Cyrtosia*, *Epistephium*, *Galeola*, *Neuwiedia*, *Palmorchis*, *Selenipedium* y *Vanilla* tienen esclerotizada la cubierta seminal y no permiten la visualización del embrión (Molvray y Kores, 1995). En un estudio sobre 4 especies del género *Vanilla* (Alomía *et al.*, 2016) demuestran claramente la lignificación de la cubierta seminal y su aspecto liso observada en microscopio óptico y electrónico de barrido, que impide la visualización del embrión.

Las diferencias observadas en las características de la cubierta seminal o testa entre géneros y especies de orquídeas, puede involucrar diferencias en procesos de dormancia y establecimiento de banco de semillas (Baskin y Baskin, 1998), en los mecanismos de dispersión anemócora de especies epífitas (Ardhitti y Ghani, 2000) o zoóscora, tal como sugieren para el caso de *Vanilla* sp. (Alomía *et al.*, 2016). Por otra parte debe considerarse que en las especies de orquídeas terrestres la dispersión de semillas se realiza a corta distancia de la planta en fructificación, ya que las espigas florales y los frutos formados alcanzan alturas de 30 a 60 cm. Jersáková y Malinová (2007) estudiaron la dispersión de semillas en tres especies terrestres y hallaron que el 80 % de las semillas cayeron en un radio de 56 cm alrededor de la planta en fructificación y el resto de las semillas se extendió hasta un radio de 2,5 m.

La investigación realizada aporta nuevos datos sobre las características morfométricas de semillas de orquídeas terrestres argentinas, que pueden ser utilizados en futuros estudios taxonómicos y ecológicos.

V. Conclusiones

Las semillas presentaron, en general, forma ahusada a levemente ahusada, tanto alargada como truncada, con colores del pardo a amarillo. La presencia de testa reticulada resultó común en todas las especies analizadas, excepto para *C. elatus*, siendo ésta estriada. Sus volúmenes varían entre 0,01 mm³ y 0,001 mm³.

Las semillas de *C. philippii* fueron las de mayor magnitud en todas las dimensiones analizadas (volumen de aire, tamaño del embrión y semilla).

Referencias bibliográficas

- ALOMÍA, Y. A., Muñoz, E., Acosta-Ranquel, A. M., Tupac Otero, J. (2016). Morphometric analysis of *Vanilla* seeds (Orchidaceae) by microscopic techniques. *Lankesteriana*, 16(1), 21-16.
- ARDITTI, J. (1979). Aspects of the physiology of orchids. *Adv Bot Res* 7, 241-665.
- ARDITTI, J., Ernst, R. (1993). *Micropropagation of Orchids*. John Wiley & Sons, New York. 640 pp.
- ARDITTI J., Ghani, A. K. (2000). Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytol.* 145, 367-421.
- 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*. *Am J Bot.*, 67, 347-360.
- AUGUSTINE, J., Yogendra, K., Sharma, J. (2001). *Orchids of India II: Biodiversity and status of Bulbophyllum Thou*. Trinagar, New Delhi: Daya publishing house.
- CHEMISQUY, M. A., Prevosti, F. J., Morrone, O. (2009). Seed morphology in the tribe Chloreaeae (Orchidaceae): combining traditional and geometric morphometrics. *Bot J Linn Soc.*, 160, 171-183.
- BARTHLOTT, W., Große-Veldmann, B., Korotkova, N. (2014). Orchid seed diversity: A scanning electron microscopy survey. – Berlin: Botanic Garden and Botanical Museum Berlin-Dahlem. – *Englera* 32, 245 pp.
- BASKIN, C. C., Baskin J. M. (1998). *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. California, USA: Academic Press, San Diego. 666 pp.
- DALZOTTO, C. A., Lallana, V.H. (2013). Tiempos de desinfección con hipoclorito de sodio para la siembra «in vitro» de semillas de *Oncidium longicornu* Mutel. I Congreso Brasileiro de Produção de Orquídeas. Fortaleza, Brasil. 05 al 10 de marzo de 2013. Resumen expandido. Pp. 67-69. Edición CD-ROM.
- DE LA CRUZ, V., Lallana, V.H. (2012). Organización de un banco de germoplasma de semillas de orquídeas, en: 3er. Congreso de Orquideología, Conservación y Bromeliáceas. Montecarlos, Misiones 18, 19, 20, 21 de julio de 2012. Resúmenes, p. 82
- DI RIENZO, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M., Robledo, C. W.

- (2012). *InfoStat, versión 2012*. Grupo InfoStat. FCA: Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- FERREIRA, T., Rasband, W. (2012). *ImageJ User Guide. IJ 1.46 m* 198 p. Recuperado de: <<https://imagej.nih.gov/ij/docs/guide/user-guide.pdf>> [Consulta 5 de diciembre 2012].
- HEALEY, P. L., Michaud, J.D., Arditti, J. (1980). Morphometry of orchid seeds. III Native California and related species of *Godyera*, *Piperia*, *Platanthera* and *Spiranthes*. *Amer J Bot.* 67, 508-518.
- JERSÁKOVA, J., Malinová, T. (2007). Spatial aspects of seed dispersal and seedling recruitment in orchids. *New phytologist*, 176, 237-241.
- LALLANA, V. H., Billard, C. E., Klug, L. M. (2010). Germinación y desarrollo de plántulas «in vitro» de *Oncidium bifolium Sims var. bifolium* (Orchidaceae). (pp. 272-274). En: Claudia Gallardo y Elena Gagliano (Comp.). *V Congreso Argentino de Floricultura y Plantas Ornamentales*. 1ra. ed. Paraná: Universidad Nacional de Entre Ríos. UNER. 354 pp.
- LALLANA, V. H., García, L. F. (2012). Conservación de semillas de orquídeas y estudio de su viabilidad en el tiempo. *Revista Análisis de Semillas*, 6(23), 58-61.
- _____ (2013). Efecto de pretratamientos en la prueba de viabilidad de semillas de *Trichocentrum jonesianum* (Orchidaceae). *Investig. Agr.* 15(2), 129-132.
- MOLVRAJ, M., Kores, P. J. (1995). Character analysis of the seed coat in Spiranthoideae and Orchidoideae, with special reference to the Diurideae (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 82, 1443-1454. doi: 10.2307/2445872.
- PIERIK, R. L. M. (1990). *Cultivo in vitro de las plantas superiores*. Madrid: Mundi Prensa. 301 pp.
- RASMUSSEN H. N. (1995). Properties of «dust» seeds (pp. 7-16). *Terrestrial orchids, from seed to mycotrophic plant*. Cambridge. Cambridge University Press. 448 pp.
- SCHIMPF, K. M., Lallana, V.H. (2013a). Cuantificación de las actividades del banco de semillas de orquídeas. FCA-UNER. Resúmenes de ponencias, p. 23. *VIII Reunión de Comunicaciones Científicas y VI Reunión de Extensión*. Facultad de Ciencias Agrarias. Oro Verde, 11 de junio de 2013.
- _____ (2013b). Morfometría de semillas de orquídeas de cinco especies del genero *Oncidium* del litoral argentino. *XXI Jornadas de Jóvenes Investigadores*. AUGM. Corrientes, Octubre 2013. Recuperado de: <http://www.fca.uner.edu.ar/index.php/menuinvestigacion/publicaciones/AUGM/SCHIMPF_UNER_24_2014.pdf> [Consulta 5 de junio 2018].
- SWAMY, K. K., Kumar, H. N. K., Ramakrishna, T. M., Ramaswamy, S. N. (2004). Studies on Seed Morphometry of Epiphytic Orchids from Western Ghats of Karnataka *Taiwan-ia*, 49(2), 124-140.
- VERMA, J., Sharma, K., Thakur, K., Kaur, J., Prakash, S. (2014). Study on seed morphometry of some threatened Western Himalayan orchids. *Turk J. Bot.*, 38, 234-251.