

## NOTAS SOBRE LA MORFOLOGIA, ANATOMIA Y GERMINACION DEL AGRAZ (*Vaccinium meridionale* Swartz.) (1)

### Notes regarding morphology, anatomy and germination of Agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz).

MARTHA L. CH. DE VALENCIA <sup>(2)</sup> Y FABIO RAMIREZ <sup>(3)</sup>

#### RESUMEN

Se presentan descripciones morfológicas de la semilla madura de *Vaccinium meridionale*, relacionadas con parámetros tales como forma, tamaño, color; igualmente su anatomía y ensayos preliminares sobre germinación y morfología de la plántula.

**Palabras Claves:** Agraz, Semilla, Germinación, Plántula.

#### SUMMARY

Morphologic descriptions of ripe seed of *Vaccinium meridionale*, related to parameters such as form, size, colour, as well as its anatomy and preliminary trials on germination and morphology of seedlings.

#### INTRODUCCION

*Vaccinium meridionale* Swartz (agraz) ha sido mencionado por Romero (1961) y Sarmiento (1986) como una de las especies productoras de frutos comestibles de zonas frías y templadas de nuestro país; sin embargo, hasta ahora comienza a observarse, con una buena aceptación, interés por este fruto. En los mercados se encuentra en fresco, en dulces y conservas.

El suministro proviene principalmente de bosques nativos cercanos a las localidades de Chiquinquirá (Departamento de Boyacá) y Ubaté (Departamento

de Cundinamarca) y actualmente no se aplica técnica alguna de cultivo, lo cual en un futuro traerá escasez en su oferta. Especies de este género son comúnmente cultivadas en Norteamérica y Europa con técnicas de cultivo iniciadas a finales del siglo pasado.

Este trabajo suministra información general sobre la germinación, morfología y anatomía de la semilla e igualmente, se adelanta el estudio morfológico y anatómico del fruto.

Otra investigación reciente sobre la misma especie fue realizada por Silva (1988), referente a su bromatología en donde concluye que "la pulpa presenta un alto contenido de fibra, potasio y especialmente un mayor porcentaje de carbohidratos y ácido ascórbico", lo cual contribuye a producir un sabor agradable". Igualmente recomienda su uso para la obtención de pulpas, materia prima en la manufacturación de productos como jugos, nectares, mermeladas, jaleas. Los estudios realizados involucran, también, las semillas que dado su tamaño, no justifica ni facilita su separación de la pulpa.

*Vaccinium meridionale* Swartz al igual que *V. floribundum* H.B.K y *Macleania rupestris* (H.B.K.) A. C. Smith, son especies cuyo cultivo se debe fomentar, puesto que crecen en suelos rocosos con pendientes y calidades no apropiadas para otros cultivos y además, son especies nativas aptas para reforestación e igualmente, dada su alta productividad en las dos cosechas grandes del año, tienen la posibilidad de obtenerse de ellas rendimientos económicos.

#### MATERIALES Y METODOS

El material biológico utilizado se obtuvo de frutos provenientes del mercado de Chiquinquirá, Departamento de Boyacá. Las semillas se extrajeron de

(1) Trabajo financiado por Colciencias-Universidad Nacional de Colombia.

(2) Profesora, Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia. Santafé de Bogotá

(3) Estudiante de Biología, Universidad Nacional de Colombia.

frutos tomados al azar, sin tener en cuenta su tamaño; por lo general, se observan tres tamaños de frutos maduros así:

7-8 mm de diámetro, con peso promedio de 1,6 g en fruto fresco.

10-12 mm de diámetro, con peso promedio 5,1 g en fruto fresco.

13-15 mm de diámetro, con peso promedio de 6,8 g en fruto fresco.

Para el análisis anatómico se usaron semillas embebidas en agua durante 24 horas, puesto que su testa en estado seco es dura y no permite una fácil manipulación.

Las formas y dimensiones fueron tomadas de semillas hidratadas y los ejes medidos son los que se presentan en las figuras. 1 y 2. Dado el tamaño de las semillas se colocaron en un portaobjeto y fueron fijadas en una capa delgada de gelatina-glicerina; en esta forma se dibujaron y midieron.

Estas mismas semillas (20 de cada tipo), fueron seccionadas a mano alzada para determinar la presencia de endosperma y embrión.

También se hicieron bloques de parafina con numerosas semillas de cada tipo y se seccionaron con micrótopo de rotación, pero los resultados no fueron buenos porque la testa se separa fácilmente y, debido al tamaño de las semillas es complicado darles la orientación apropiada.

La terminología empleada en las descripciones morfológicas de las semillas siguen a Duke (1969) y Niembro (1988) y de la germinación, a Ye (1983).

Los dibujos fueron realizados con cámara lúcida Carl-Zeiss-Jena y se presentan con sus escalas respectivas.

Para detectar grasas en el endospermo, se utilizó Sudan III sobre secciones transversales delgadas, para almidones lugol y para proteínas, previa extracción de grasas, ácido picrico - eosina. (Roth (1964), Johansen (1940)).

Las semillas usadas en el montaje de germinación fueron desinfectadas por inmersión en hipoclorito de sodio al 10% por 3 minutos y luego lavadas con agua destilada. Se sembraron en cajas de petri de 11 cm

de diámetro, sobre papel wattman número cuatro con agua destilada. En cada caja, se sembraron 50 semillas y se efectuaron tres montajes de semillas "grandes" y tres de pequeñas seleccionadas a simple vista y solo se tuvo en cuenta el tamaño, sin tener en cuenta el color y la forma.

Las observaciones se hicieron cada tres días desde 15 a 45 días después de sembradas. A partir de semillas obtenidas de frutos deshidratados y guardados durante diez meses, se hizo otro montaje para germinación con semillas grandes y pequeñas en condiciones similares a las anteriores, 78 grandes y 110 pequeñas.

La prueba de viabilidad se realizó con 2,3, 5 -trifenil tetrazolium, para 20 semillas grandes y 20 pequeñas, según lo descrito por Córdoba (1976).

## RESULTADOS

### Morfología y Anatomía

Las semillas de *Vaccinium meridionale* provienen de rudimentos seminales muy pequeños, anátropos y unitégmicos. Por cada fruto se producen semillas variadas en tamaño, número, color y forma; en algunos frutos se encuentran pocas semillas bien desarrolladas y numerosos rudimentos de color blanquecino. Esta característica se observó también en forma muy marcada para los frutos de *V. floribundum*. (Valencia et al para publicación).

Bell (1957) describe la anatomía de *Vaccinium angustifolium* Ait. var. *laevifolium* House y comparando la anatomía de esta especie con las observaciones hechas sobre *V. floribundum* H.B.K. y *V. meridionale* Swartz, muestran gran similitud anatómica aplicable a nivel del género *Vaccinium*.

### Forma

Presenta formas variadas entre aplanadas y tridimensionales con predominancia de las primeras y con contorno oblongo-elíptico.

### Tamaño

Las semillas son muy pequeñas, menores de 2 mm de largo. Entre ellas se diferencian dos tamaños evidentes, las "grandes" con promedio de 1.87-1.40 mm de largo por 0,87-1,40 mm de ancho y las más pequeñas de 1,40-0,84 mm de largo por 1,2-0,5 mm de ancho (Fig 1,2). Dentro de las primeras también se incluyen las de tamaño intermedio.

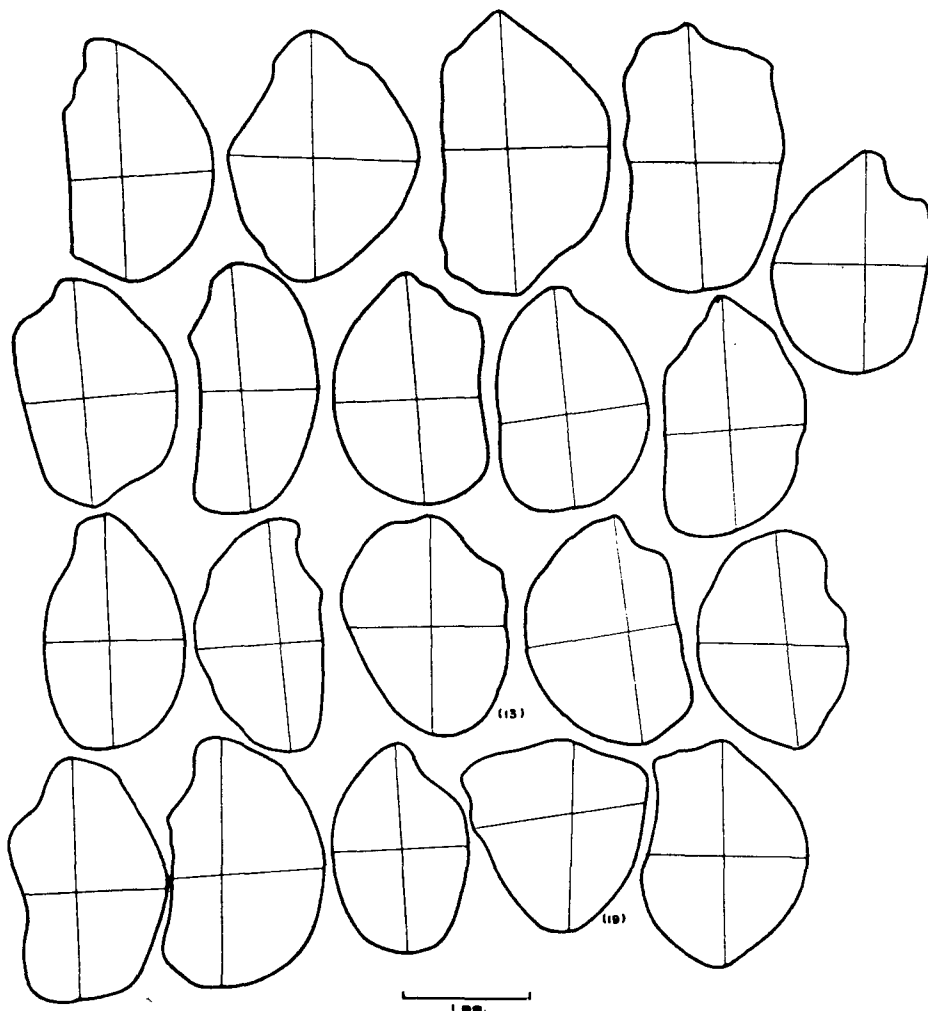


Figura 1. Formas y tamaños de las semillas "grandes" (13 y 19 tridimensionales).

**Color**

El color predominante es pardo-dorado, pero algunas presentan color pardo más oscuro y otras son de tinte rojizo.

**Numero**

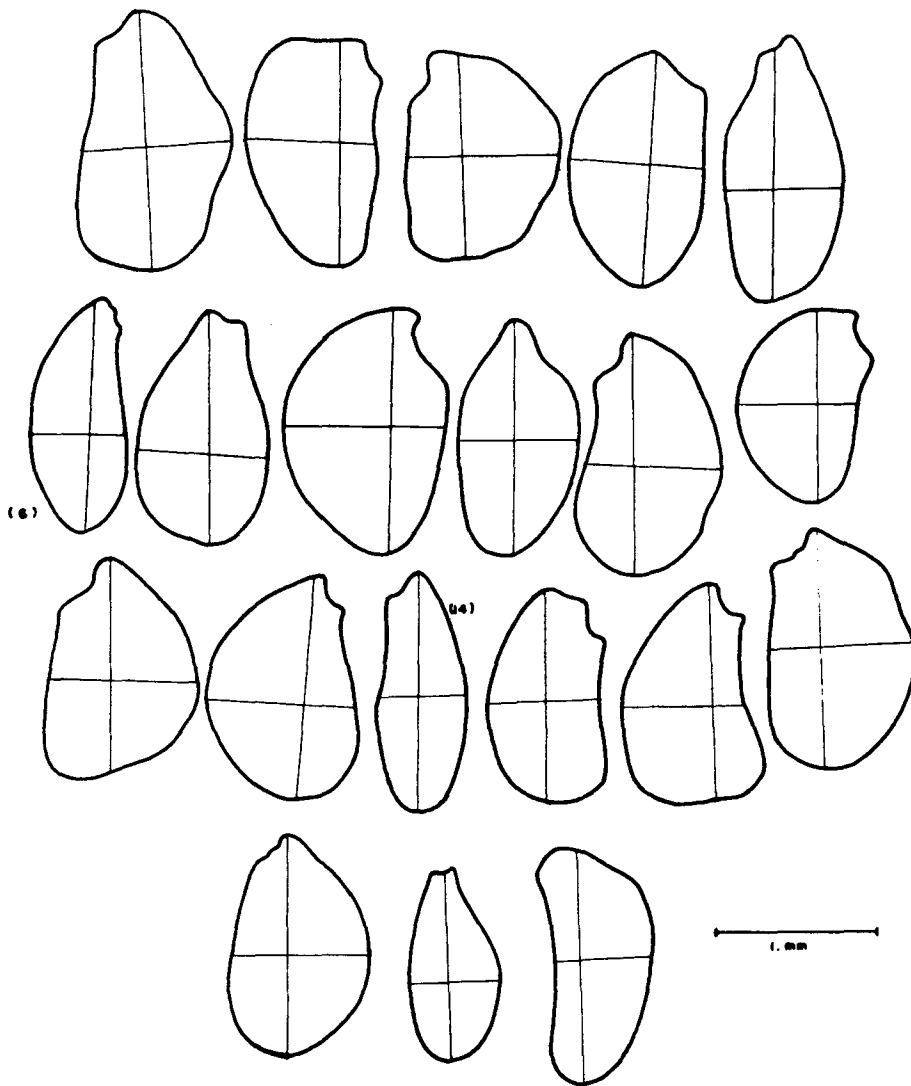
Romero (1961) y Silva (1988) señalan de 8 a 12 semillas por fruto, número bajo con relación a los valores encontrados.

Se examinaron 20 frutos con un diámetro de 8 mm y se encontraron desde dos semillas por fruto hasta 27, con un promedio de 15. En frutos de 10-12 mm

de diámetro, el mínimo fué de 10 semillas y máximo 55, para un promedio de 37 semillas por fruto.

**Hilo y Micropilo**

Como la semilla es tan pequeña, la visualización clara del hilo y el micrópilo debe hacerse al esteroscopio y con la semilla previamente hidratada. El hilo se ubica en una pequeña depresión oblonga y está situado en un extremo de la semilla en posición un poco lateral; cercano a él, está el micrópilo, destacable en algunas semillas por formar al lado un pequeño abultamiento; en otros, no es conspicuo y solo se ubica al hacer cortes medianos de la semilla



**Figura 2.** Formas y tamaños de la semillas "pequeñas". (6 y 14 color más claro y obliteradas, sin endosperma, sin embrión).

### Cubierta Seminal

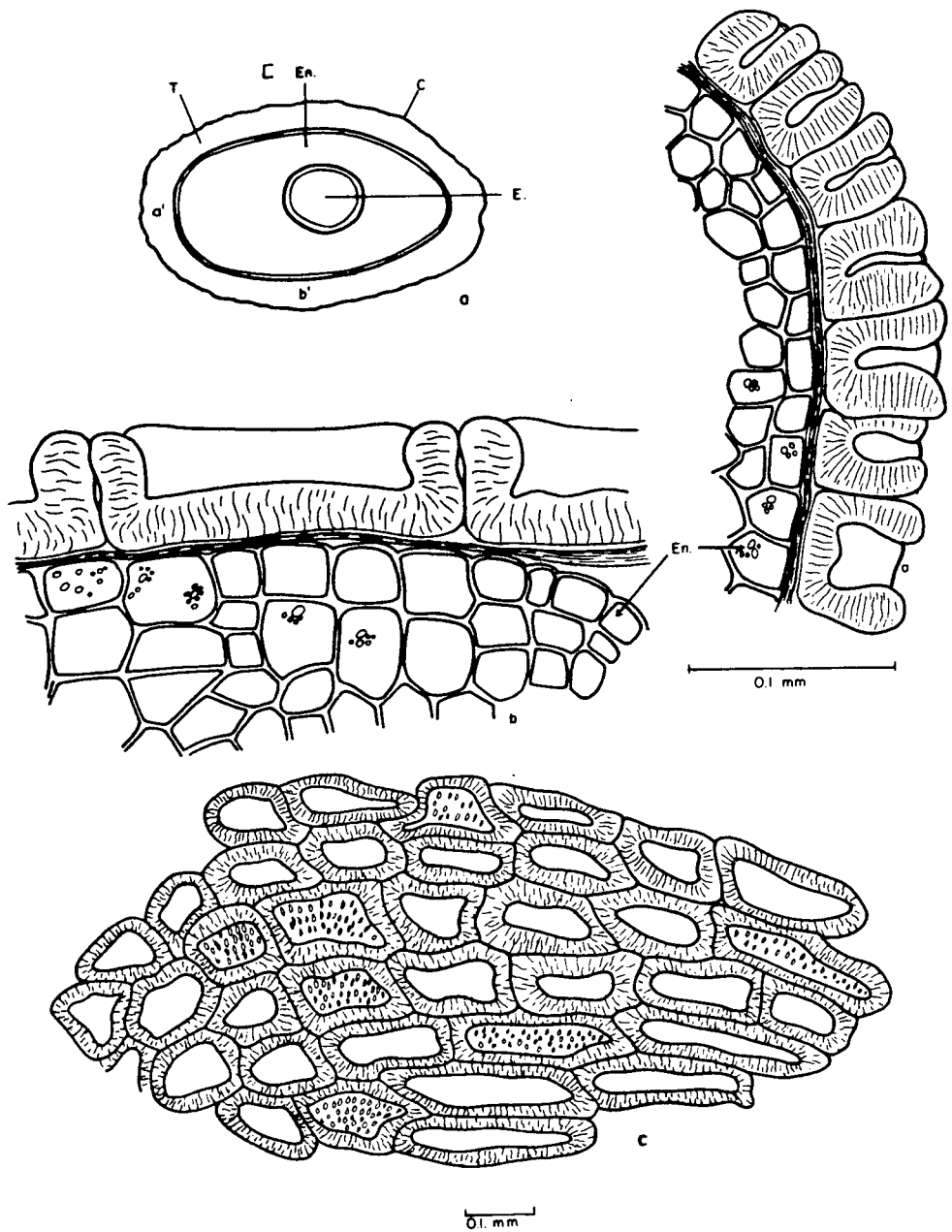
La cubierta seminal es relativamente dura, de consistencia leñosa y superficie reticulada. (Fig 3C).

La parte mecánica está representada por una sola capa de esclereidas mas o menos cuboidales, con sus paredes lateral y tangencial interna muy engrosadas y de color amarillento y con numerosas punteaduras; debajo de esta capa, se localiza una zona delgada de células obliteradas también coloreadas y de aspecto brillante y homogéneo.

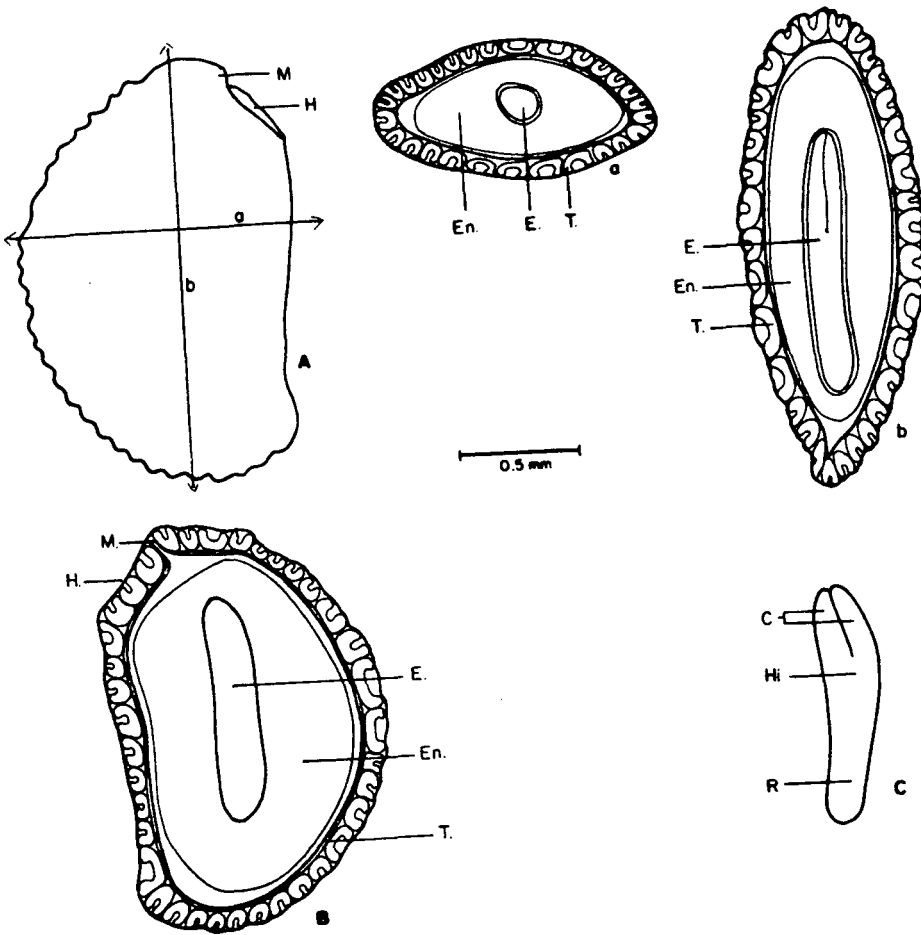
Esta capa mecánica corresponde al desarrollo y transformación de la epidermis externa del único tegumento, por ello debe considerarse la semilla exotestal como lo señala Corner (1976). Es evidente la presencia de taninos en las paredes de las esclereidas, aun en semillas inmaduras. (Fig. 3a y b).

### Tejido de Reserva

El tejido de reserva está constituido por el endospermo que es de tipo entero y en posición externa con relación al embrión (Fig.4).



**Figura 3.a** - Corte transversal de la semilla: a - detalle anatómico (zona a'). b - detalle anatómico (zona b'). c - detalle anatómico de la superficie de la testa. (T.- testa, en.- endospermo, E.-embrión.)



**Figura 4.** A- Vista general de la semilla: a- plano transversal b- plano transmediano. B- Plano mediano. C- Embrión. (M.- micropilo, H- hilo, E- embrión, En- endospermo, T- testa, C- cotiledones, Hi- hipocotilo, R- radícula.)

La consistencia es carnosa y está compuesto por lípidos y proteínas; las paredes de sus células son delgadas y con numerosas gotas de grasa en su citoplasma (Fig. 3b).

De las semillas examinadas (20 pequeñas y 20 grandes) se observaron dos semillas con endospermo lignificado y sin embrión; posteriormente, en otras observaciones se encontró que este tipo de semillas ocurre en mayor proporción en las llamadas pequeñas.

Lo anterior concuerda con lo descrito por Bell (1957) para *V. angustifolium* var. *laeivifolium*, quien señala que estas semillas no poseen embrión, su endosperma está formado por parénquima lignificado y con punteaduras primarias y el espacio donde debía localizarse el embrión se encuentra obliterado.

Bell (op.cit.), también describe otro tipo de semilla en donde los tejidos internos se encuentran desintegrados y, por lo tanto, la semilla está colapsada. De este tipo, al menos en las semillas



**Figura 5** - Germinación: a- dos días después de la emergencia de la radícula. b-4 días c-6 días, d- 10 días, f- 15 días, liberación de la testa g- 18 días, plántula con cotiledones libres y verdes. (X15).

examinadas, no se observaron para *V.meridionale*

#### Embrión

Es del tipo axial, localizado en el eje central de la semilla, lineal, oblongo y recto (en las semillas tridimensionales observadas, el embrión está levemente curvado).

Los cotiledones son de igual tamaño, de ápice

redondeado, margen entero, sin ángulo de separación entre sí; su longitud es de un tercio con relación a la longitud total del embrión. El epicótilo no forma plúmula y no hay demarcación entre hipocótilo y radícula (fig.4c).

#### Germinación

La germinación se inicia entre 20 - 22 días después de la siembra y abarca hasta 42-45 días. El porcen-

taje de germinación es mayor en las semillas grandes (62%) y el vigor de las plántulas es evidente. Para las semillas pequeñas su porcentaje de germinación es de 20% y las plántulas tienen menor porte y con raíces más cortas y más susceptibles de ser atacadas por hongos.

Las semillas procedentes de frutos deshidratados y guardados durante diez meses mostraron porcentajes de germinación un poco más bajos para las semillas más grandes (54%), pero más altas para las pequeñas (23%).

Los resultados de prueba de viabilidad con 2, 3, 5-trifenil tetrazolium arrojaron los siguientes resultados: 85% para semillas grandes viables y un 90% para semillas pequeñas viables. Se analizaron las semillas no viables y correspondieron a aquellas que no poseen embrión y que fueron descritas anteriormente.

Según lo descrito por Duke (1969), *V. meridionale* posee germinación fanerocotilar, puesto que los cotiledones emergen de la semilla.

Una vez se liberan de la testa aparecen extendidos y de color verde, en tanto que el hipocótilo se torna rojizo, color que adopta la plántula durante mucho tiempo, debido a la presencia de antocianinas.

El epicótilo y la plúmula conforman la diminuta yema apical (Fig.5).

No se desarrollan catáfilos, lo cual concuerda con Hallé et al. (1978), quien señala que en especies epígea, si estos no se presentan y, por encima de los cotiledones solo aparecen nomófilos (Fig.6).

Según Ye (1983), la arquitectura de la plántula corresponde al tipo Magnolia, la cual se caracteriza por poseer semillas con abundante endosperma, embrión pequeño y los cotiledones con funciones de absorción y fotosíntesis.

Los cotiledones son opuestos, el segundo par de hojas (eófilos) es opuesto y decusado con respecto a los cotiledones; la sucesión foliar se continúa con hojas alternas (Fig.6).

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- La anatomía de la semilla madura de *Vaccinium meridionale* no se aparta de la descrita por (Bell 1957) para *Vaccinium angustifolium* Ait. var. *laevifolium* House.

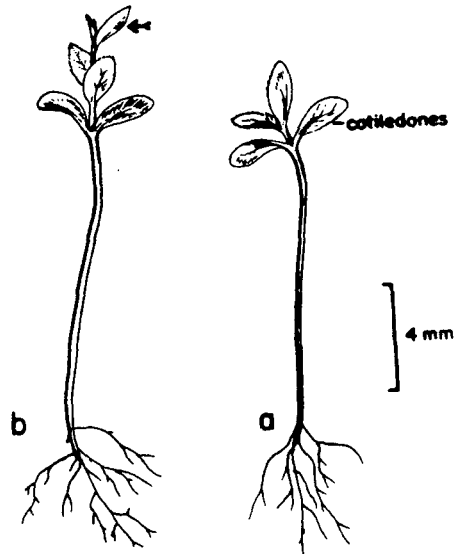


Figura 6. Plántulas. a - a los 28 días de germinación con su primer par de hojas opuestas, eófilos. b - a los 48 días, el segundo par de hojas, ya presenta distribución alterna. ⇐).

- Además de las semillas normales, Bell (op. cit.) reporta la presencia de semillas pequeñas colapsadas y con los tejidos internos desintegrados y semillas lignificadas. Las del primer tipo no fueron detectadas, las del segundo tipo sí. Esto se debió al número bajo de semillas analizadas, en comparación con el número que él estudio.

- El tipo de germinación es fanerocotilar

- La conformación de la plántula corresponde al tipo Magnolia.

- La semilla es muy pequeña, menor de 2mm de longitud.

- Se presentan dos tipos de semillas: las más "grandes" oscilan entre 1,87 - 1,40 mm de largo por 0,87 - 1,40 mm de ancho y las pequeñas de 1,40 - 0,84 mm de largo por 1,2 - 0,5 mm de ancho.

- Las semillas pequeñas presentan el índice de germinación más bajo con relación a las de mayor tamaño.

- La mayoría de las semillas son aplanadas aunque, pueden presentarse algunas tridimensionales.

- La semilla de *V. meridionale* es exotestal.



- El embrión es de tipo axial - lineal, oblongo y recto.

- En la semilla las sustancias de reserva están representadas por el endospermo, compuesto principalmente por aceites y proteínas.

- La prueba de viabilidad, para semillas provenientes de frutos deshidratados y almacenados durante diez meses, mostró porcentajes altos: 85% semilla grande y 90% semilla pequeña.

- Comparando los porcentajes de germinación de semillas frescas y semillas almacenadas en condiciones de laboratorio por diez meses, la pérdida del vigor no es muy apreciable.

- Para estudios fenológicos o anatómicos desde plántula, es recomendable hacer la siembra directamente en capote - tierra, por cuanto las plántulas son muy frágiles y al transplantarlas desde las cajas de petri son pocas las que sobreviven.

- Se recomienda usar suelo - capote proveniente del medio natural donde crece esta especie, por cuanto en las Ericáceas está reportada la presencia de Micorrizas, responsables del vigor de la plántula y del establecimiento exitoso de la misma en el medio.

- Con los rangos de tamaños suministrados y conociendo que el mayor porcentaje de germinación se presenta en las semillas grandes, solo basta con usar el tamiz apropiado para separar estas semillas para efectos de la producción de plántulas.

## LITERATURA CITADA

1-Bell, H. P. The development of Blueberry Seed. Can. J. Botany 35: 139 - 153. 1957.

2-Cordoba, C. Fisiología Vegetal. H. Blume Ediciones, Madrid. 1976.

3-Corner, E. J. H. The seeds of dicotyledons. Vol. I Cambridge University Press, Cambridge. 1976.

4-Duke, J. On tropical tree seedlings I seeds, Seedlings Systems and Systematics. Ann. Missouri Bot. Gard. 56(2): 125 - 161. 1969.

5-Halle, F. et al. Tropical trees and Forest. Springer, Verlag, Berlin. 1978.

6-Johansen, D. A. Plant Microtechnique Mc. Graw Hill Publication Book Co, New York. 1940.

7-Niembro, A. Semillas de Arboles y Arbustos. Ontogenia y Estructura. Editorial Limusa, Mexico. 1988.

8-Romero, R. Frutas Silvestres de Colombia. Vol. I Editorial San Juan Eudes, Bogotá. 1961.

9-Sarmiento, E. Frutas en Colombia. Ediciones Cultural Colombiana Ltda. Bogotá. 1986.

10-Silva, M. L. Estudio Bromatológico de tres especies de frutos comestibles de los páramos de Cundinamarca. Trabajo de Grado, Magister Biología. Universidad Javeriana, Bogotá. 1988.

11-Valencia, M. L. de, N. de Lozano y C. de Hakspiel. Anatomía del fruto de *Vaccinium floribundum* H.B.K. (Para publicación).

12-Ye, N. Studies on the Seedling types of Dicotyledonous Plants (Magnoliophyta, Magnolio-psida) Phytologia 54(3): 161-224. 1983.