

Estudio morfológico de diferentes estadios ontogénicos de flor, fruto y semilla de *Dipteryx panamensis* (Pittier) Record & Mell (Fabaceae) (Almendro)

Hernán Baltazar Castañeda ¹
Ileana Moreira G. ²
Elizabeth Arnáez S. ²
Ethel Sánchez Ch. ³

Abstract

The studies were processed in the Electronic Microscopic Unity of the University of Costa Rica with material of *Dipteryx panamensis* (almendro). This material were gotten from the selected trees in the North Huetar Region of Costa Rica, 1997. The samples were processed to be observed in the Scanning Electron Microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM).

The androecium characterized because it presented anthers oval-globular with curved filament, tricolpate pollen with excrescences. The perianth presented petals with botiformes trichomes.

The gynoecium presented a superior ovary unicarpelar, submarginal and suspended placentarious.

The fruit presented an exalbuminous seed with seed coat formed by palisade and esclerified cells.

Resumen

El estudio se llevó a cabo en la Unidad de Microscopía Electrónica de la Universidad de Costa Rica, con material reproductivo de *Dipteryx panamensis* (almendro), obtenido de árboles previamente seleccionados, en la Región Huetar Norte de Costa Rica. Las muestras fueron procesadas

¹ Facultad de Ingeniería Forestal, Universidad Nacional del Centro del Perú, Huancayo, Perú.

² Instituto Tecnológico de Costa Rica, Escuela de Biología, Cartago, Costa Rica.

³ Universidad de Costa Rica, Unidad de Microscopía Electrónica, San José, Costa Rica.

para ser observadas al microscopio electrónico de barrido y de transmisión. Se describió el androceo, donde se observó anteras ovadas-globosas con filamento recurvado, polen tricolpado con excrecencias. El perianto presenta pétalos con tricomas botiformes. El gineceo presentó un ovario súpero, unicarpelar, placentación submarginal y suspendida. El fruto presentaba una sola semilla exalbuminosa, con cubierta seminal conformada por células en empalizada y esclerificadas. El endocarpo es pétreo, con presencia de conductos oleaginosos.

Introducción

Actualmente, el sostenimiento de los ecosistemas de los bosques húmedos tropicales se ve amenazado por la destrucción del equilibrio biológico provocado por un aprovechamiento poco racional del recurso, especialmente en lo que a especies nativas se refiere. Profundizar en los estudios de biología reproductiva de dichas especies es una gran necesidad para poder fomentar el uso de estas en los planes de recuperación de zonas erosionadas. La microscopía electrónica debe ser utilizada como instrumento para describir ultraestructuralmente los órganos reproductores de estas especies, contribuyendo así al conocimiento de las barreras de polinización y de germinación que frecuentemente se presentan en estos individuos.

La especie forestal nativa *Dipteryx panamensis* (Pittier.) Record&Mell. (Fabaceae, Subfamilia Papilionoideae) (almendro); es uno de árboles más sobresalientes por su exuberancia y belleza en el bosque tropical húmedo, y muy húmedo de la zona atlántica de Costa Rica. El almendro está distribuido a través de los bosques de tierras bajas desde Nicaragua hasta Colombia, y en Costa Rica, es abundante desde las llanuras

de Guatuso hasta Bribri y en la Región Huetar Norte; en esta región la temperatura varía de 24 a 30 °C, la precipitación promedio anual es de 3.500 - 5.500 mm y la altitud de 600-1.200 m.s.n.m.

Es una especie dominante en el dosel del bosque, y muy apreciada por la calidad de su madera, por su gran potencial ornamental y su valor ecológico (COSEFORMA, 1996; Flores, 1992). La madera es extremadamente pesada (peso específico 0,83-1,09), su secado es rápido con tendencia a agrietarse. Se caracteriza por tener alta resistencia natural al ataque de agentes biológicos (hongos y bacterias) y por su alto contenido de tálides y taninos es difícil de preservar (Carpio, 1995.; COSEFORMA, 1996.; Flores 1992). Se utiliza en la construcción pesada de puentes, viviendas, carpintería.

La biología reproductiva de esta especie ha permitido determinar que la floración se extiende desde mayo a julio, coincidiendo con el inicio de las lluvias; sin embargo, varía de una zona bioclimática a otra. El fruto es una legumbre, corta y dehiscente, comprimida lateralmente, con endocarpo grueso, duro y contiene una sola semilla; el llenado de los frutos tarda alrededor de 4 meses y la colecta de estos coincide con la época de menor precipitación. La semilla es ovalada, con cotiledones grandes, carnosos y la cubierta seminal es rudimentaria, limitándose al tamaño de la cavidad del endocarpo (Flores, 1992).

Este estudio pretende con la descripción de las estructuras reproductoras en los diversos estadios ontogénicos, contribuir al conocimiento de los aspectos biológicos de la especie, para desarrollar un manejo silvicultural sostenible con el fin de preservar el ecosistema de los bosques húmedos tropicales.

Materiales y métodos

Las flores, frutos y semillas de *Dipteryx panamensis* (Pittier.) Record & Mell, fueron colectados en el mes de julio, 1996, de árboles localizados en la Región Huetar Norte, San Carlos, Costa Rica, zona tropical con temperatura promedio entre 24-30 °C, altitud 600 m.s.n.m., y precipitación promedio anual entre 3.500- 5.500 mm.

La descripción del material se realizó en el Laboratorio de la Unidad de Microscopía Electrónica de la Universidad de Costa Rica.

El material en fresco se disecó y se observó al estereoscopio, para lograr la orientación adecuada, se seccionaron las estructuras morfológicas de interés (anteras, carpelos, pétalos, frutos y semillas).

Posteriormente, las muestras fueron fijadas en solución de Karnovsky preparado con glutaral-dehído 2,5 %, paraformaldehído 2%, con un amortiguador 0,1 M pH 7,2 por 24 horas, lavados con ácido tánico al 1% por 2 horas, después de varios lavados con amortiguador, fue posfijado con tetraóxido de osmio al 1 % por 2 horas y nuevamente se lavó con amortiguador; posteriormente, se deshidrató en una serie ascendente de alcoholes de 30°.

Para el estudio con microscopio electrónico de transmisión, las muestras del carpelo fueron incluidas en resina Spurr de dureza alta, seccionadas en ultramicrotomo LKB-8800 con navajas de vidrio. Fueron teñidas con acetato de uranilo y plomo Mizuhira, observando en microscopio electrónico de transmisión HITACHI H-7100.

Para el estudio con microscopio electrónico de barrido, las muestras se secaron en sublimador VFD-20, fueron montadas y cubiertas con 15 nm de platino en coberter iónico EIKO IB-5. Para observar

el polen las anteras fueron maceradas y luego se realizó la digestión con hidróxido de sodio al 20%, se lavó con agua destilada previa centrifugación, se limpió con sonicator, se osmificó con tetraóxido de osmio al 2% por 1 hora, lavando en agua destilada; y luego se secó en estufa a 30 °C por 30 minutos. Las muestras se observaron en microscopio electrónico de barrido HITACHI S-570 y S-2360N.

Una vez tomadas las fotografías, se revelaron y se describió el material.

Resultados y discusión

Androceo

Las anteras de *Dipteryx panamensis* (Pittier.) Record & Mell (Fabaceae, Subfamilia Papilionoideae), (almendro), observados al microscopio electrónico de barrido tiene forma ovada-globosa en el lado abaxial y versátiles, con dos lóbulos laterales sobresalientes; son de tamaño variable y miden de largo 500 μm y de ancho 389 μm ; la superficie de antera madura se caracteriza por ser de grano periferal, rugoso y ondulado con líneas casi paralelas en toda su superficie presenta una cutícula muy delgada y glabra en el lado abaxial y se abre cuando llega a madurar para diseminar el polen. El filamento es recurvado y delgado, con superficie glabra y células de tamaños variables, presenta estriaciones ondulares paralelas y longitudinales. (Figura 1); la dehiscencia es longitudinal (Figura 2).

Las anteras en el corte transversal presentan cuatro sacos polínicos con microsporas de 27,9 μm de diámetro, de forma esferoidal con abundante exina de superficie rugosa, y el grosor de la pared de microesporangio entre la epidermis y el tapete es 17,6 μm (Figura 3).

El polen tiene la forma esférica según la clasificación de Erdtman (1963), tritreme

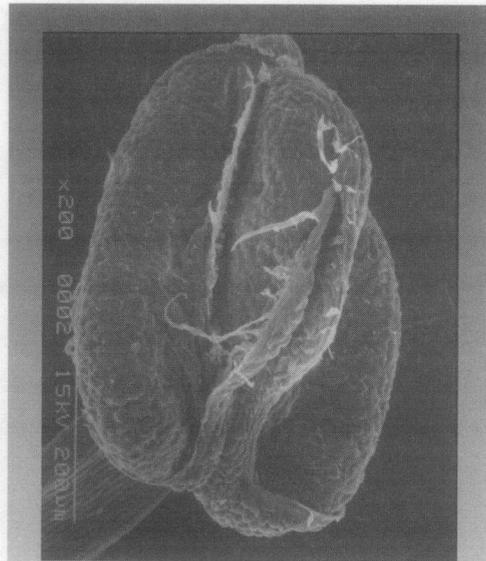


Figura 1
Antera ovalada globosa, con presencia de cutícula fina y el filamento recurvado

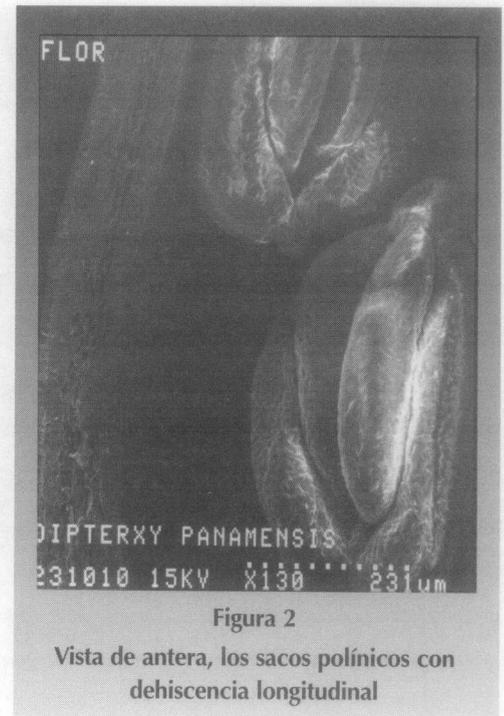


Figura 2
Vista de antera, los sacos polínicos con dehiscencia longitudinal

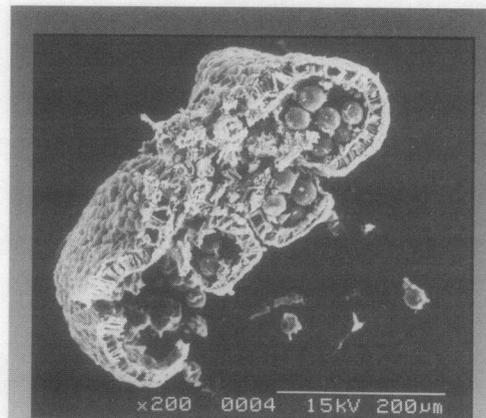


Figura 3
Corte transversal de antera, con polen esférico. Se observa el endotecio (en) (SEM)

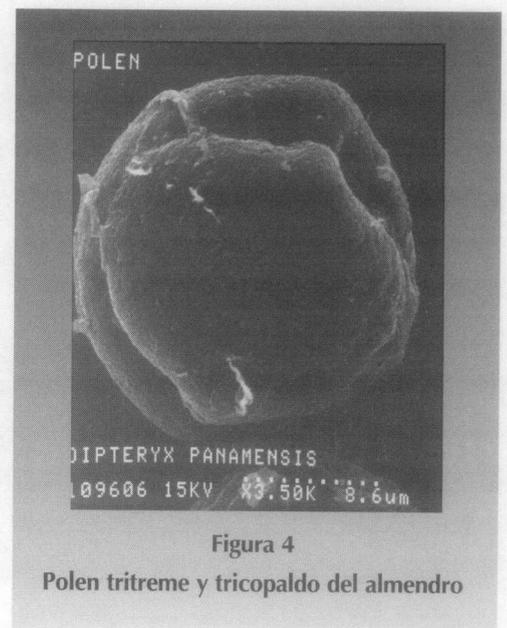


Figura 4
Polen tritreme y tricolpado del almendro

y tricolpado, Erdtman (1963) y Moore *et al.* (1991); presenta una vista polar elíptica y vista ecuatorial obtuso, y el lado angular acuminado obtuso, según la clasificación de Reitsma (1970). (Figura 4). La exina presenta una ornamentación de la superficie del *tectum* de regularmente fino y perforado o microperforado; estas características descritas son similares

con las observadas en *Cordyla pinnata*, tribu Swartziae, subfamilia: Papilionaceae: Leguminosae, por Ferguson (1988). (Figura 5).

Periantio

Los pétalos tienen alas falcadas según Flores (1994), libre, enmarginaladas,

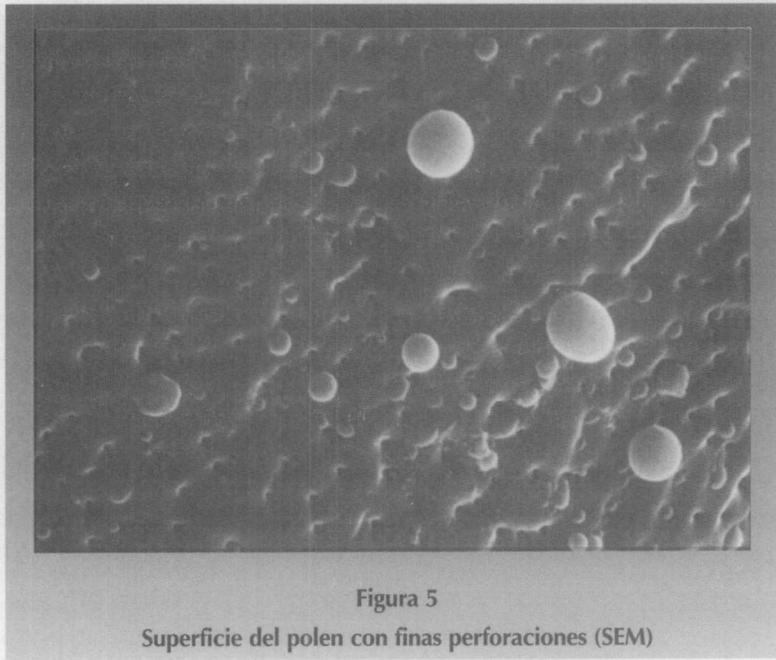


Figura 5
Superficie del polen con finas perforaciones (SEM)

presentan tricomas botiforme según el esquema de Payne (1978); la epidermis tiene una cutícula membranosa anticlinal ondulada longitudinalmente, de superficie lisa. Se observa tricomas jóvenes en crecimiento en el lado abaxial, son tubuliformes, con pubescencia fina con diámetro de 4,48 μm y 42,2 μm de longitud, el grosor de la pared de estos

tricomas es de 0,5 μm , inicialmente desarrollan la función de glándulas secretoras. (Figura 6). Se observa diferenciación en cuanto a su forma y tamaño final de los tricomas del pétalo de la flor en anthesis floral y maduro, siendo los tricomas maduros con ramificación más pronunciada.

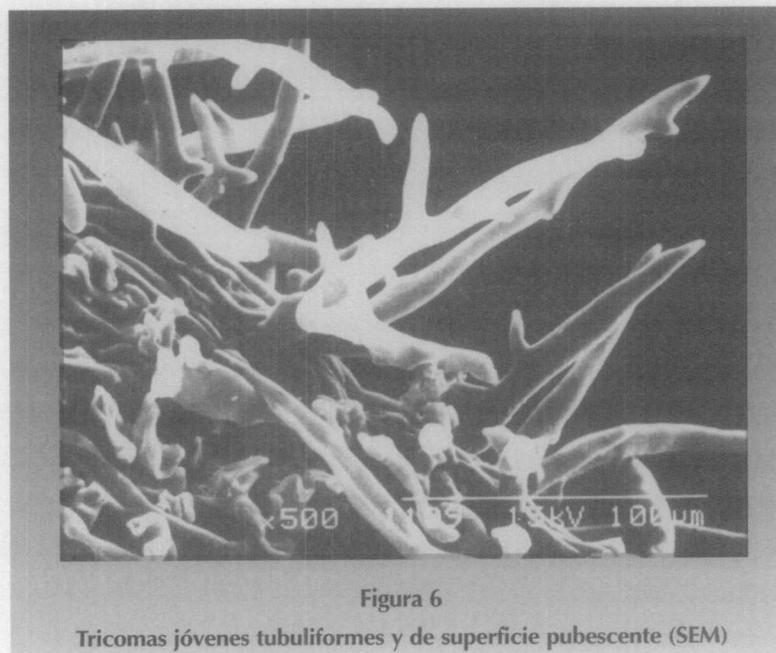


Figura 6
Tricomas jóvenes tubuliformes y de superficie pubescente (SEM)

Gineceo

El ovario de *Dipteryx panamensis* (Pittier) Record y Mell (Leguminosae), en el corte transversal, presenta un lóculo, es unicarpelar, el funículo es corto estipitado, linear, de superficie glabra; la placentación es submarginal y suspendida; la pared del ovario se divide en tres capas distintas: a) una epidermis exterior, b) una epidermis exterior y una zona media denominada pared del ovario donde se observan varias capas de células. Tiene tres haces caperlares, uno para cada margen y uno para la nervadura media opuesta a ellos. Esta estructura morfológica es similar a *Phaseolus vulgaris*, según Weier, E.; Stocking, R. and Barbour M. (1980), y define que son características muy particulares de las Leguminosas (Figura 7).

El estilo, en el corte transversal, presenta tejido parenquimático y conductores constituidos por el xilema y floema. Se observa la presencia de acumulaciones de sustancias químicas

oxidantes denominados tilides y deposiciones de taninos. (Figura 8).

La estructura del carpelo, observado al microscopio electrónico de transmisión en la sección longitudinal a nivel de estilo, muestra la diferenciación de los elementos traqueales en crecimiento primario, conformado por el xilema en donde se observa la pared secundaria, y la formación de los vasos de los elementos traqueales, con engrosamientos de forma helicoidal, observándose además los plasmodesmos (Figura 9). En las células del floema se observa la pared primaria, con engrosamientos de suberina y la lámina media, los plastidios, almidón; y los plasmodesmos que son la conexión de dos células continuas a través de un canal en la pared celular. En la sección transversal, se notan los espacios intercelulares, el tejido parenquimático del estilo, mostrando la acumulación sustancias ergásticas de compuestos fenólicos oxidantes denominados tilides y taninos vacuolizados, como las observadas en *Caesalpinia pulcherrima* (L) Sw. (Owens, Prychid y Cox, 1995), presentes en especies forestales de densidad alta (0,84), como el caso de la especie estudiada.

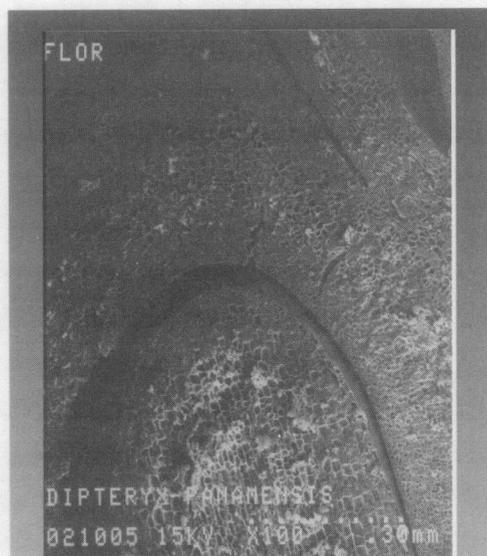


Figura 7

Ovario. Se muestra el lóculo y la epidermis exterior, epidermis interior (SEM)

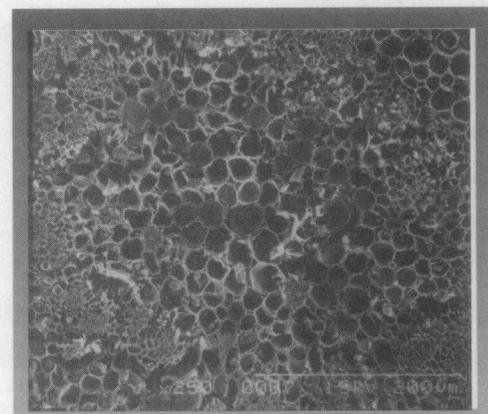


Figura 8

Tejido parenquimático del estilo en corte transversal, Muestra xilema, floema, taninos y tñlides (SEM)

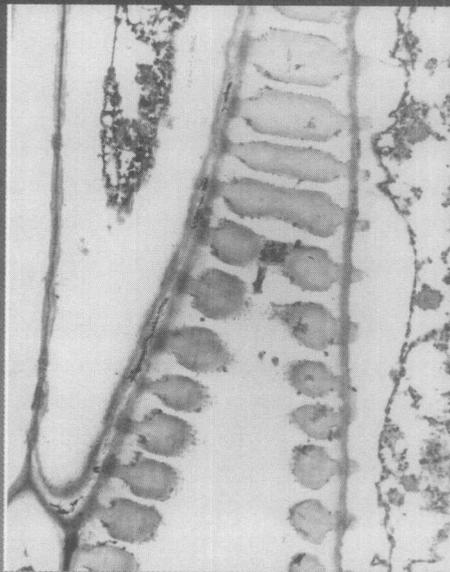


Figura 9

Sección longitudinal del carpelo en TEM, muestra el desarrollo del elemento traqueal en crecimiento primario en distribución helicoidal. Se observa la deposición inicial de la pared secundaria y el plasmodesmo

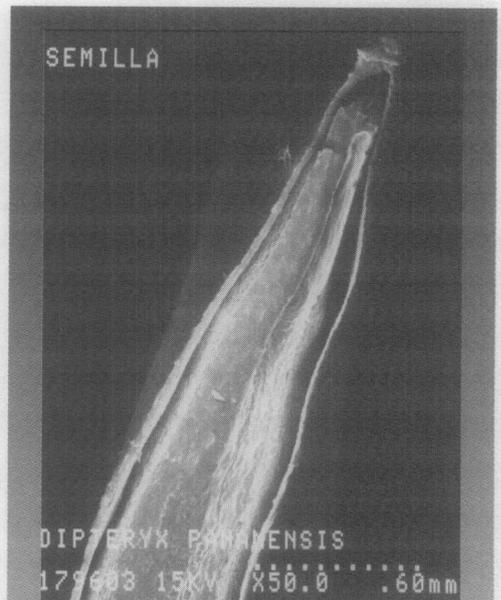


Figura 10

Semilla del almendro en corte transversal visto en SEM. Se observa la cubierta seminal, el endospermo delgado y los cotiledones almidonosos

Semilla

Las semillas, en la sección transversal, tienen una cubierta seminal con células empalizadas y esclerificadas, de superficie rugosa y glabra; el endosperma de la semilla es exalbulminoso y escaso, está adherido a la parte interior de la cubierta seminal, mostrándose como una lámina muy delgada (Figura 10).

Fruto

El fruto presenta en un corte transversal un tejido constituido por parénquima amiloso. El endocarpo es grueso; se observa la etapa inicial de la formación de la semilla, y los conductos oleaginosos (Figura 11).

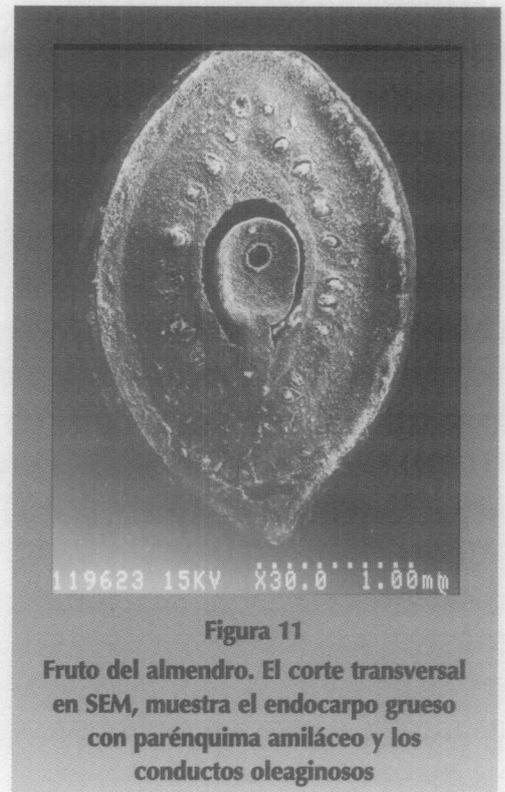


Figura 11

Fruto del almendro. El corte transversal en SEM, muestra el endocarpo grueso con parénquima amiláceo y los conductos oleaginosos

Conclusiones y recomendaciones

Estos estudios son una necesidad para comprender los mecanismos de polinización y biología reproductiva en general, de las especies nativas forestales del país.

Son parte esencial de las directrices para el mejoramiento genético forestal.

La carencia de esta información hace que se tomen medidas poco acertadas en lo que respecta al manejo forestal.

Se recomienda aplicar estos estudios a las especies forestales nativas de importancia comercial en Costa Rica, para en un futuro brindar un aprovechamiento sostenible a los bosques húmedos tropicales.

Agradecimientos

A la Agencia de Cooperación Internacional del Gobierno de Japón (JICA); a la Universidad de Costa Rica (UCR), por haber participado uno de los autores H.B. en el XIV Curso Regional de Microscopia Electrónica; al personal de la Unidad de Microscopia Electrónica, por su apoyo en la realización del presente trabajo y a la Escuela de Biología del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), por su colaboración.

Resumen

El presente estudio muestra la morfología externa e interna de la flor, fruto y semilla, de *Dipteryx panamensis* (Pittier.) Record&Mell (Fabaceae Subfamilia Papilionoidea), (almendro). Se analizaron los diferentes estadios ontogénicos de esta especie forestal, que es nativa de Costa Rica y de importancia comercial. Las muestras se colectaron en la Región Huetar Norte de Costa Rica para ser ob-

servadas con microscopios electrónicos de transmisión y barrido.

Se enfatizó en las características fenotípicas de las estructuras reproductoras en microscopio electrónico de barrido. Las anteras tienen forma ovada-globosa, de superficie de grano periferal cubierto por una fina cutícula glabra, posee cuatro microesporangios que contienen polen de forma esferoidal, tritreme y tricolpado, de vista polar y ecuatorial elíptica obtusa respectivamente y de superficie microporoso. Los pétalos son falcados, libres y emergentes, la superficie es glabra anticlinal y ondular; presentan tricomas botiformes en estado maduro, tubuliformes y pubescentes en estado joven. El ovario es unilocular, unicarpelar, submarginado y lineal. La semilla tiene cubierta seminal empalizada esclerificada, de superficie rugosa y glabra; el endospermo es exalbuminoso adherido al interior de la cubierta seminal y presenta una membrana muy delgada. El fruto tiene endocarpo grueso, con presencia de células amilosas y oleaginosas.

Los tejidos del carpelo, constituidos por el estilo, tienen estructuras celulares compuesta por la presencia de células del parénquima, xilema, floema y muestran la deposición de tálides y sustancias ergásticas denominados taninos muy comunes en estas especies. En el microscopio electrónico de transmisión, el carpelo presenta la formación de los elementos traqueales primarios y la deposición de tálides y los compuestos fenólicos oxidantes denominado taninos. También se observa los plasmodesmos, la pared primaria, la pared secundaria y la lámina media componentes de la estructura celular vegetal.

El presente estudio permitirá conocer los estadios ontogénicos de las estructuras reproductoras, su taxonomía y el

comportamiento en el proceso reproductivo y su posterior manejo de esta especie forestal.

Bibliografía

- Carpio, I. 1995. *Maderas de Costa Rica: 150 especies forestales*. Editorial de la Universidad de Costa Rica. Segunda Edición. San José. Costa Rica. 338 pp.
- Carpio, I.; Arroyo, O. y Sánchez, E. 1996. *Anatomía y ultraestructura de 20 especies maderables de importancia comercial en Costa Rica*. Instituto de Investigaciones en Ingeniería. Laboratorio de Productos Forestales. Unidad de Microscopía Electrónica. Universidad de Costa Rica. Informe Final de Proyecto. Publicaciones Universidad de Costa Rica. 114 pp.
- Clifford, S. and Owens, S. 1990. *The Stigma, Style, and Ovarian Transmitting tract in the Oncidiinae (Orchidaceae): Morphology, Developmental, Anatomy, and Histochemistry*. *Bot. Gaz.* 151(4):440-451.
- COSEFORMA, GTZ, Y MINAE. 1996. *Almendro*. Nota Técnica. 6 pp.
- Esau, K. 1977. *Anatomy of Seed Plants*. John Wiley & Sons Inc. New York. 550 pp.
- Erdtman, G. 1963. *Palinology. Advances in Botanical Research*. Academic Press Inc. New York. Vol. 1:149-208.
- Ferguson, J. and Skavarla, J. 1988. *Pollen Morphology of The Tribe Swartziae (Subfamily papilionoideae: Leguminosae). 1. Introduction and all genera excluding aldina and Swartzia*. *Amer. J. Bot.* 75(12):1884-1897.
- Flores, E. 1994. *La planta: Estructura y función*. Editorial Tecnológica de Costa Rica. Segunda Edición. Cartago. Costa Rica. 504 pp.
- Flores, E. 1992. *Árboles y semillas del Neotrópico*. Vol. I(1):1-69.
- Montiel, M. y Kozuka, Y. 1994. "Polen de gramineas y sus aspectos botánicos, taxonómicos y ecológicos". *Rev. Biol. Trop.* 42(Sup.1):21-39.
- Moore, P.; Webb, J. and Collison, M. 1991. *Pollen Analysis*. 2nd. ed. Blackwell Scientific Publications. Oxford. 216 pp.
- Moreira, I. y Arnáez, E. 1994. "Morfología de las estructuras reproductoras y germinación de nueve especies forestales nativas de Costa Rica". *Rev. Biol. Trop.* 42(Sup.2):73-82.
- Owens, S.; Prichid, C. and Cox, V. 1995. "Structure and Development of The Stigma, Style and Ovary of *Caesalpinea pulcherrima* (L). SW., post-anthesis, pre-and post-pollination". *Botanical Journal of The Linnean Society* 118:275-288.
- Roels, P. and Smets, E. 1996. "A Floral Ontogenetic Study in The Diapsacales". *Int. J. Plant. Sc.* 157(2):203-218.
- Sánchez, E.; Carpio, I. y Arroyo, O. 1994. "Ultraestructura de la madera de seis especies arborescentes de importancia comercial en Costa Rica". *Rev. Biol. Trop.* 42(Sup.2):59-64 p.
- Skavarla, J.; Rowley, J. and Chissoe, W. 1988. *Adaptability of Scanning Electron Microscopy to Studies Pollen Morphology*. *Aliso*. 12(1):119-175.
- Tucker, S.; Stein, O. and Derstine, K. 1985. "Floral Development in *Caesalpinea* (Leguminosae)". *Amer. J. Bot.* 72(9):1424-1434.