

# Caracterización morfológica y anatómica del fruto, semilla y plántula de *Schinopsis marginata* Engl. (Anacardiaceae) y su relación con las fases de la germinación

Herrera, A. B., Agüero, C. G., Joseau, M. J. y Molinelli, M. L.

DOI: 10.31047/1668.298x.v41.n2.42966

## RESUMEN

*Schinopsis marginata* Engl. (Anacardiaceae) es un árbol nativo dominante del Bosque Chaqueño Serrano de Argentina. Los objetivos fueron caracterizar la morfología y anatomía del fruto, semilla y plántula, describir la morfología de la plántula en vivero y establecer relaciones con las fases del proceso de germinación: entrada de agua y emisión de radícula. Se aplicaron técnicas de microscopía, germinación en laboratorio y vivero, y tinciones para caracterización anatómica, morfológica y entrada de agua. Se fundamenta desde la morfología y anatomía la definición del fruto como sámara y se aportan datos novedosos del pericarpo y su función de barrera mecánica durante la emergencia radicular. Se caracteriza por primera vez la morfología y anatomía de la semilla con la descripción del arilo vestigial. En el embrión, se comprueba la función reservante de los cotiledones. Se corroboró la morfología de la plántula de vivero y se establecieron caracteres diagnósticos para su reconocimiento. En relación con la germinación, se determina el camino que realiza el agua y se comprueba que las macroesclereidas del mesocarpo constituyen la barrera física a la entrada de agua. Se sugiere la función del arilo en la apertura del endocarpo en la fase de imbibición, que favorece la emergencia radicular.

**Palabras clave:** orco quebracho, árbol nativo, germinación, morfología, entrada de agua

Herrera, A. B., Agüero, C. G., Joseau, M. J., and Molinelli, M. L. (2024). Characterization of *Schinopsis marginata* Engl. (Anacardiaceae) fruit, seed and seedling in relation with the stages of germination. *Agriscientia*, 41(2), 71-84

## ABSTRACT

*Schinopsis marginata* Engl. (Anacardiaceae) is a dominant native tree of

the Chaco Serrano Forest of Argentina. The objectives were to characterize the morphology and anatomy of the fruit, seed and seedling, describe the morphology of the seedling in the nursery and establish relationships with the germination: water uptake and radicle emission. Microscopy, laboratory and nursery germination, and staining techniques were applied for anatomical, morphological and water uptake characterization. The definition of the fruit as samara is based on morphology and anatomy, and new data on the pericarp and its function as a mechanical barrier during root emergence are provided. The morphology and anatomy of the seed is characterized for the first time with the novelty of the vestigial aril. In the embryo, the storage function of the cotyledons is verified. The morphology of the nursery seedling was confirmed and diagnostic characters were established for its recognition. In relation to the germination, the path taken by the water is determined and it is verified that the macrosclereids of the mesocarp constitute the physical barrier to water uptake. The function of the aril in the opening of the endocarp in the imbibition phase is suggested, which favors root emergence.

**Keywords:** orco quebracho, native tree, germination, morphology, water uptake

Herrera, A. B. (ORCID: 0000-0002-6741-0093), Agüero, C. G. (ORCID: 0000-0001-7319-4844): Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Vegetal, Laboratorio de Análisis de Semillas (LASIDYS), Córdoba, Argentina. Joseau, M. J. (ORCID: 0000-0002-7871-9782): Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Vegetal, Silvicultura, Córdoba, Argentina. Molinelli, M. L. (ORCID: 0000-0003-0689-9267): Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Fundamentación Biológica, Cátedra Botánica Morfológica, Córdoba, Argentina.

Correspondencia a: belenherrera@agro.unc.edu.ar

## INTRODUCCIÓN

*Schinopsis marginata* (Anacardiaceae) es un árbol conocido como “orco quebracho”, se distribuye desde Perú, Bolivia, Paraguay y sur de Brasil, hasta Argentina en el Bosque Chaqueño Serrano (Muñoz, 2000; Global Biodiversity Information Facility [GBIF], 2019). En la provincia de Córdoba, habita en las sierras del norte y del sur entre los 500 y 2.100 m s.n.m. como especie dominante junto a *Ruprechtia apetala* Wedd. “manzano del campo” y *Schinopsis lorentzii* Engl. “quebracho colorado santiagueño” (Cabrera, 1976). Según Flores et al. (2013), algunos autores aceptan a *S. marginata* y *S. lorentzii* como sinónimos. El orco quebracho es utilizado tradicionalmente por su madera, propiedades melíferas y tintóreas (Verzino et al., 2016). Es considerada por su valor paisajístico y si bien Demaio et al. (2015) la clasificaron como una especie subutilizada en parquizaciones, la Ordenanza Municipal de Córdoba N.º 12.472 del

año 2015 (Consejo Deliberante de la ciudad de Córdoba), lograda en convenio con la Facultad Ciencias Agropecuarias – Universidad Nacional de Córdoba, la incluye en el Plan Forestal para ser utilizada en el arbolado público. Su atractivo como ornamental se atribuye a sus colores en el otoño, su follaje se torna rojizo y los frutos rojos brillantes se vuelven castaño-rojizos al madurar.

En relación a la terminología del fruto aplicada a Anacardiaceae, en los tratados taxonómicos de la familia se cita al fruto drupáceo, como por ejemplo en Zomlefer (2004), mientras que Muñoz (2000) mencionó tanto frutos drupáceos como samaroides, estos últimos están nombrados específicamente para *S. marginata*. Entre los antecedentes referidos al género, Vidal (1978) describió el fruto de *Schinopsis brasiliensis* Engl. y *Schinopsis balansae* Engl., como una sámara con el interior drupáceo. Por otro lado, Barberis et al. (2012) caracterizaron al fruto de *S. balansae* como una drupa samaroides, uniseminada y semileñosa.

Esta amplia variedad en la terminología aplicada pone en evidencia la problemática en relación a la complejidad para nombrar al fruto de las Anacardiaceae.

Las características anatómicas del fruto de varios géneros de Anacardiaceae fueron tratadas por Wannan y Quinn (1990), quienes realizaron la descripción somera de los tejidos del pericarpo con fines taxonómicos, incluido *S. marginata*. Más aún, González y Vesprini (2010) describieron la anatomía y la ontogenia del fruto de *S. balansae* en relación con la presencia y ausencia de semillas. Por otro lado, en los tratados de botánica, Fahn (1985) y Esau (1982) caracterizaron la anatomía de los frutos secos indehiscentes en los que se destaca la semejanza estructural del pericarpo y del episperma. Estos autores también describieron las características de las drupas, como frutos carnosos derivados del ovario de una flor unicarpelar y perígina, con el endocarpo duro y grueso.

Con respecto a las características de las semillas de las Anacardiaceae, Corner (2009) describió su morfología, la organización del tegumento seminal y la función del arilo de algunas especies, sin embargo, no cita a *S. marginata*. Este autor también mencionó para la familia la dormición física, y, en este sentido, Baskin y Baskin (2014) remarcaron la impermeabilidad del endocarpo para algunas Anacardiaceae. La ausencia de antecedentes específicos que describan la anatomía y morfología del fruto y la semilla de *S. marginata* plantea la necesidad de su estudio para completar su caracterización.

En relación a los estudios de la plántula de *Schinopsis*, los antecedentes corresponden a plántulas obtenidas de ensayos de germinación realizados en vivero: Cáceres (2011) describió a *Schinopsis lorentzii* (Griseb.) Engl. y a *S. balansae*, y Joseau et al. (2013) a *S. marginata*. Sin embargo, no se registran datos que relacionen la plántula con el embrión que la origina, por lo cual es importante investigar la morfología y anatomía de la semilla y su correspondencia con las estructuras de la plántula.

En las especies con frutos indehiscentes toma relevancia la caracterización anatómica del pericarpo, que puede relacionarse con aspectos vinculados a la semilla, tales como los procesos que ocurren durante las fases de germinación, como lo demuestran trabajos realizados en *Ribes multiflorum* Kit. ex Roem. & Schult., *R. apetala* y *Echium plantagineum* L., por Mattana et al. (2012), Díaz y Molinelli (2018) y Molinelli et al. (2020), respectivamente.

En una publicación reciente, Agüero et al. (2022) estudiaron en *S. marginata* la calidad fisiológica de las semillas y evaluaron el pretratamiento de corte del fruto para superar la dormición de tipo mecánica. Sin embargo, no se registran antecedentes que describan las características morfológicas y anatómicas del fruto y la semilla responsables de dicho comportamiento. Por lo tanto, resulta interesante profundizar los estudios en esta especie para conocer las particularidades del pericarpo y del episperma relacionadas con las fases de germinación.

En base a estos antecedentes se plantearon los siguientes objetivos: caracterizar la morfología y anatomía del fruto, semilla y plántula, describir la morfología de la plántula en vivero y establecer relaciones con las fases del proceso de germinación: entrada de agua y emisión de la radícula.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material estudiado

Se cosecharon en los años 2021 y 2022 frutos de *Schinopsis marginata* Engl. de dos poblaciones ubicadas en el Bosque Chaqueño Serrano San Marcos Sierras y La Higuera, Córdoba, Argentina. Además, se colectaron ejemplares en estado reproductivo que fueron herborizados, catalogados, identificados y depositados en la Colección de Semillas (CS) del herbario ACOR de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba: *Schinopsis marginata* Engl. ARGENTINA. Prov. Córdoba: Dpto. Cruz del Eje, San Marcos Sierra, 30° 47' 3.3" S y 64° 38' 1.16" O, 13-IV-2021, Herrera Álvarez 2323 (ACOR, CS); 30° 47' 8.3" S y 64° 38' 16.25" O, 13-IV-2021, Herrera Álvarez 2325 (ACOR, CS); 30° 47' 10" S y 64° 38' 14.08" O, 13-IV-2021, Herrera Álvarez 2328 (ACOR, CS). Dpto. Cruz del Eje, La Higuera, 31° 0' 8,1" S y 65° 5' 13,76" O, 13-IV-2021, Herrera Álvarez 2318 (ACOR, CS); 31° 3' 4,56" S y 65° 5' 14,18" O, 13-IV-2021, Herrera Álvarez 2322 (ACOR, CS).

### Descripción morfológica y anatómica de fruto, semilla y plántula

Para la descripción de la morfología del fruto maduro y la semilla, se realizaron observaciones en frutos intactos con un microscopio estereoscópico Zeiss Stemi DV4. El color del fruto y la semilla se determinó según la carta de colores de Munsell (2000). Se midió el largo, ancho y espesor de

setecientos frutos, el peso de mil semillas (*sensu lato*) y la humedad según las Reglas Internacionales para Análisis de Semillas (International Seed Testing Association [ISTA], 2022). Para los estudios anatómicos del fruto (epicarpo, mesocarpo y endocarpo), semilla (episperma, endosperma y embrión) y plántula (cotiledón, hipocótilo y raíz), se realizaron cortes histológicos transversales y preparados temporarios. La descripción se realizó mediante el análisis de las vistas superficiales y de los cortes transversales. Se aplicaron las metodologías clásicas de la histología vegetal y las técnicas de elaboración y tinción de preparados temporarios para microscopía óptica descritas por Luque et al. (1996) y Zarlavsky (2014). Para teñir las secciones se empleó safranina (1 g de safranina disuelta en 100 ml de etanol al 50 %) y solución acuosa de azul astral (0,5 g de azul astral disuelto en 100 ml de agua). Además, para determinar la naturaleza de las sustancias de reserva, se realizaron las siguientes pruebas histoquímicas: reactivo de Lugol para almidón; Sudán IV a saturación en alcohol etílico 70°, para lípidos; rojo de rutenio 0,1 % en agua destilada, para pectinas; sulfato férrico en formol 10 %, para taninos; ácido clorhídrico 2 % en agua destilada, para cristales de oxalato de calcio; floroglucina 1 % en alcohol etílico 96°, para lignina. Para identificar proteínas, se utilizó la tinción de Coomassie: para 1 litro de solución se disolvió 1,25 g de azul brillante de Coomassie en una mezcla de agua, metanol y ácido acético glacial con proporción 5:4:1 tomado de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT, 2003). Las observaciones se realizaron con un microscopio Nikon Eclipse E 400, se efectuaron mediciones con un micrómetro de ocular y se tomaron registros fotográficos. Las características del fruto se analizaron según los criterios y la terminología propuestos por Spjut (1994) y las de la semilla por Esau (1982), Werker (1997) y Corner (2009). Para la descripción del embrión y el endosperma, se siguió la clasificación de Martin (1946). Para la caracterización de la plántula, se realizaron ensayos de germinación en laboratorio y se analizaron a los quince días de germinadas. La descripción exomorfológica de la plántula se realizó según los esquemas de clasificación de Ye (1983) y los tipos morfológicos de plántula de De Vogel (1980).

### Zona inicial de entrada de agua

En la metodología utilizada para determinar el sitio inicial de entrada de agua, se adaptaron técnicas propuestas en los trabajos de Voyiatzis

(1992) y Gama-Arachchige et al. (2013). Se sumergieron en verde rápido al 1 % por 24 h a temperatura ambiente, diez frutos intactos y diez semillas cubiertas por el endocarpo (se extrajo el epicarpo y mesocarpo con alicate). Se retiraron y lavaron con agua, con el fin de extraer el exceso superficial del colorante, se secaron con papel absorbente y se realizaron cortes longitudinales y transversales con bisturí que fueron observados y fotografiados bajo microscopio estereoscópico Zeiss Stemi DV4.

### Ensayo de germinación

Para la descripción de la plántula en condiciones de vivero, se realizaron ensayos de germinación con semillas (*sensu lato*), estas se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1 % durante 1 min y se enjuagaron con agua destilada. Se realizaron cuatro repeticiones de veinticinco semillas en bandejas plásticas de germinación, con medio de crecimiento entre papel (doble hoja) Valot® Supreme, humedecido con agua destilada hasta capacidad de retención (35 ml.g<sup>-1</sup>), las bandejas se envolvieron en bolsas de polietileno para conservar la humedad. Las condiciones de la cámara de germinación se establecieron según Agüero et al. (2022): temperatura alternante de 25-35 °C, con 8 h de oscuridad y 16 h de luz. El ensayo finalizó a los catorce días desde la siembra.

Para la descripción de la plántula en condiciones de vivero se realizaron ensayos de germinación en invernadero. Las semillas (*sensu lato*) se sembraron en envases tubo de 20 cm de altura y 565 cm<sup>3</sup> de capacidad, y con un sustrato compuesto con 75 % de tierra y 25 % de arena. Se describió la morfología de la plántula mediante el seguimiento a través de registros semanales desde su germinación hasta los nueve meses de crecimiento. Se tuvieron en cuenta los rasgos morfológicos del sistema radicular y la parte aérea, en esta última se caracterizaron los cotiledones (consistencia y color), la forma de los protofilos y nomofilos, la filotaxis y el desarrollo del hipocotilo en relación con el tipo de germinación.

### Análisis estadístico

Los datos del largo, ancho y espesor de los frutos y el peso de mil semillas se analizaron mediante un análisis de la varianza no paramétrica de Kruskal-Wallis. Se utilizó el software InfoStat (Di Rienzo et al., 2021).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Características morfológicas y anatómicas del fruto

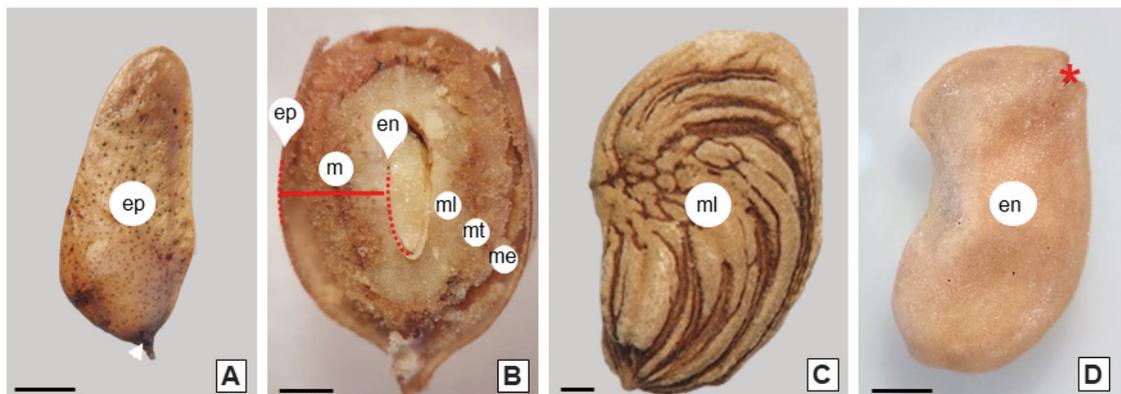
Se observaron frutos secos, glabros, uniseminados e indehiscentes con el cáliz persistente, de color marrón claro (10YR 7/4) y el pericarpo con el margen extendido longitudinalmente –pericarpo alado– (Figura 1 A). Para la familia Anacardiaceae se mencionan drupas y frutos drupáceos o samaroides por Zomlefer (2004) y Muñoz (2000), respectivamente. En términos generales, Font Quer (2007) define a la drupa como un fruto carnoso con el interior leñoso, mientras que Spjut (1994) describe a los frutos drupáceos, como aquellos que, por alguna característica morfológica, difieren de la definición estricta de drupa, entre ellas la posición relativa del ovario de la flor en relación con el perianto y la presencia de pericarpo seco. Por otro lado, este autor menciona a la sámara como sinónimo de samaridio y la describe como un fruto que deriva de una flor de ovario súpero, con el pericarpo seco e indehisciente, características que coinciden con las observadas en *S. marginata*. En consideración con las particularidades de la flor y la morfología del fruto maduro de *S. marginata*, el término que más se ajusta es el de sámara, criterio que coincide con Spjut (1994).

El peso promedio de mil semillas (*sensu lato*) fue de  $182,6 \pm 29,75$  g. El contenido de humedad fue de 11,8 %. Los frutos midieron de largo  $25,74 \text{ mm} \pm 3,12$ ; de ancho  $10,39 \text{ mm} \pm 1,31$  y de espesor  $4,72 \text{ mm} \pm 0,57$ . Estas medidas son

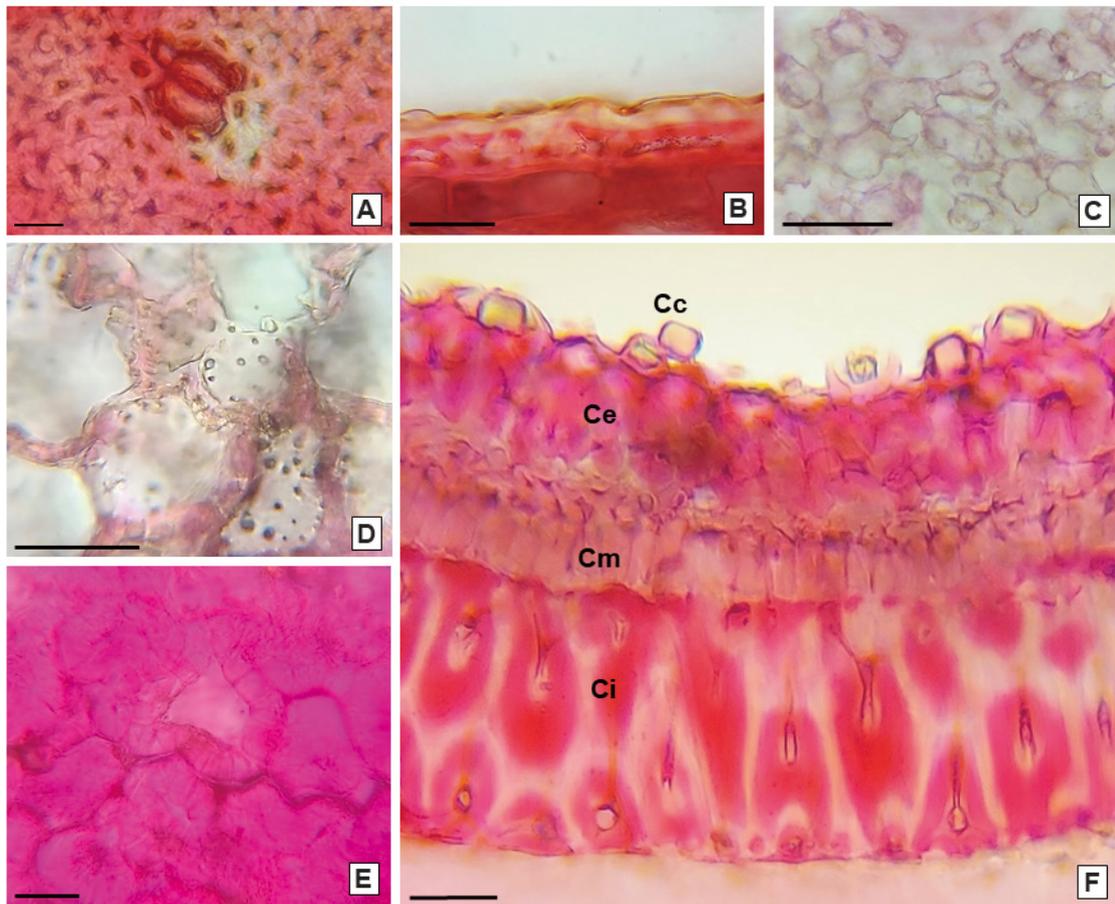
semejantes a las obtenidas por Muñoz (2000), con valores entre 20 – 35 mm y 8 – 12 mm para el largo y el ancho, respectivamente, y a las de Agüero et al. (2022), quienes registraron 25,52 mm de largo, 9,91 mm de ancho y 4,45 mm de espesor.

En corte transversal, realizado en la zona media de la parte proximal del fruto, se observó que el epicarpo es delgado y en el mesocarpo se distinguieron tres zonas: externa esponjosa (con aspecto farináceo), intermedia de transición e interna leñosa y el endocarpo de consistencia coriácea (Figura 1 B-D). Este último difiere en la consistencia leñosa mencionada por Muñoz (2000) para el género *Schinopsis*. Mientras que, en el corte transversal, realizado en la zona media del pericarpo alado, solo intervienen el epicarpo delgado y el mesocarpo esponjoso.

En relación a las características anatómicas del pericarpo, en el epicarpo se destacaron dos capas de células; en la más externa se observaron, en vista superficial, células de forma irregular y estomas, mientras que en el corte transversal se distinguieron por el grosor de las paredes radiales y la tangencial externa; la siguiente capa estuvo constituida por células parenquimatosas y alargadas tangencialmente (Figura 2 A, B). Los resultados obtenidos en la prueba histoquímica para lignina fueron negativos y, si bien las características observadas en el epicarpo coinciden en general con las descritas en *S. marginata* y en *S. balansae* por Wannan y Quinn (1990) y por González y Vesprini (2010), respectivamente, se diferencian en que dichos autores mencionan que las células de la capa más externa están lignificadas.



**Figura 1.** Morfología del fruto de *S. marginata*. A) Fruto en vista superficial, se observa el epicarpo y el cáliz presente; B) Corte transversal del fruto: epicarpo, mesocarpo (esponjoso, de transición y leñoso) y endocarpo; C) Mesocarpo leñoso (se extrajo el epicarpo y mesocarpo esponjoso); D) Endocarpo coriáceo. Abreviaturas: ep: epicarpo; m: mesocarpo; me: mesocarpo externo; mt: mesocarpo de transición; ml: mesocarpo leñoso; en: endocarpo. Referencias: línea continua: mesocarpo; línea interrumpida: epicarpo y endocarpo; \*: cicatriz del haz vascular; ►: Cáliz. Escala: A: 5 mm; B-D: 1 mm.



**Figura 2.** Anatomía del fruto de *S. marginata*. A) Vista superficial del epicarpo con presencia de estomas; B) Corte transversal del epicarpo, capa más externa de células con cutícula gruesa y células subepidérmicas alargadas; C) Mesocarpo en corte transversal, se observan células del aerénquima; D) Mesocarpo de transición en corte trasversal; E) Mesocarpo leñoso en corte transversal: macrosclereidas; F) Corte transversal del endocarpo, se destaca la capa cristalífera con cristales de oxalato de calcio. Abreviaturas: Cc: Capa cristalífera; Ce: Capa externa; Cm: Capa media y Ci: Capa interna. Escala: A: 20  $\mu$ m; B: 10  $\mu$ m; C-E: 25  $\mu$ m; F: 50  $\mu$ m.

En el mesocarpo se diferenciaron tres zonas. En primer lugar, en la zona distal se observó el aerénquima, formado por células parenquimáticas con prolongaciones en forma de brazos que delimitan espacios intercelulares. En la zona intermedia de transición, se distinguieron células de paredes gruesas y abundantes punteaduras. La zona más interna, de grosor considerable estaba constituida por macrosclereidas lignificadas que dieron resultado positivo a la prueba de lignina (Figura 2 C-E).

El endocarpo es de escaso grosor y se observaron cuatro capas, la más externa con cristales prismáticos, que en la prueba histoquímica reaccionaron positivamente al oxalato

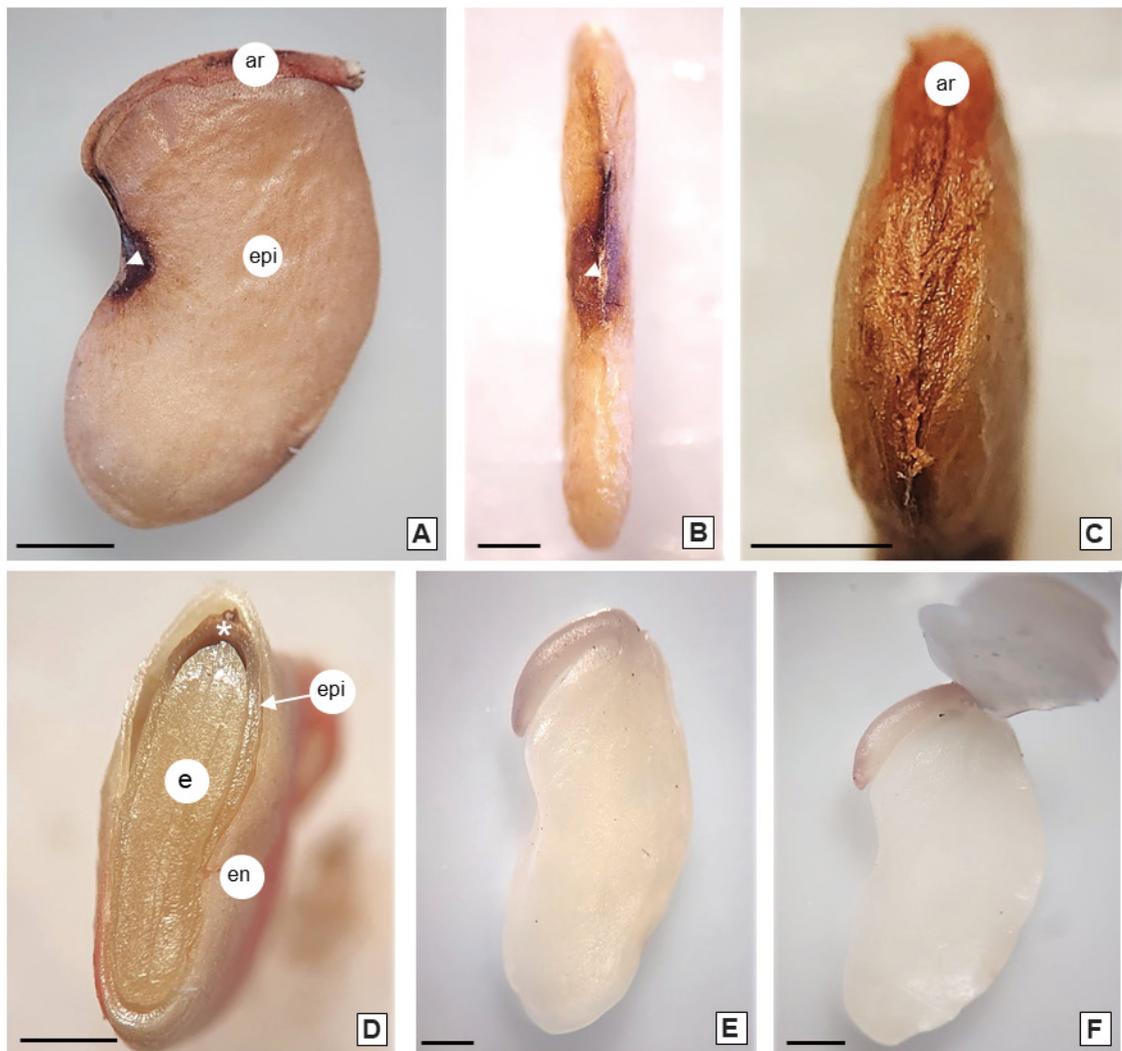
de calcio. A continuación de la capa cristalífera, se observaron tres capas de esclereidas: la más externa con células de forma cuadrangular, la media con osteoesclereidas (con espacios de aire entre sus células) y la interna, en empalizada, con macrosclereidas de extremos ramificados; estas últimas células dieron resultado negativo para la prueba de taninos y lignina (Figura 2 F). Si bien Wannan y Quinn (1990) y González y Vesprini (2010) mencionaron las cuatro capas del endocarpo, con características citológicas semejantes a las observadas en *S. marginata*, en este trabajo se aporta la composición de los cristales de la capa cristalífera y la clasificación de las esclereidas de la capa media como osteoesclereidas. En

relación a los espacios intercelulares entre las osteoesclereidas observados en esta especie, también fueron mencionados en el pericarpo de *Calendula officinalis* por Fahn (1985), como cámaras de aire que colaboran con la dispersión del fruto por el viento; se puede atribuir esta misma función en la sámara de *S. marginata*. Se destaca la ausencia de líneas de debilidad en el pericarpo de *S. marginata* (intervinientes en la apertura del fruto) en relación con su naturaleza indehisciente. En este sentido, González y Vesprini (2010) destacan en *S. balansae* la relación entre las células columnares del endocarpo y su función protectora, mientras que a las células del epicarpo

les atribuyen influencia en la indehiscencia del fruto, características compartidas con la especie en estudio.

### Características morfológicas y anatómicas de la semilla

Las semillas se observaron en su mayor superficie de color marrón claro (10YR 8/4), mientras que en la zona chalazal, marrón oscuro (10YR 3/2) y en el arilo, marrón amarillento (10YR 3/2). La topografía de la superficie fue lisa y no se diferenciaron el micrópilo ni el hilo (Figura 3 A, B). En relación con



**Figura 3.** Morfología de la semilla de *S. marginata*. A) Vista sagital; B) Vista ventral; C) Vista superior con detalle del arilo; D) Semilla en corte transversal, de afuera hacia adentro: endocarpo, episperma y embrión; E) Embrión en vista sagital, se observa la radícula lineal; F) Embrión con cotiledones abiertos con plúmula rudimentaria. Abreviaturas: ar: arilo; epi: episperma; e: embrión; en: endocarpo. Referencias: \*: chalaza; \*: endosperma. Escala: A-F: 1 mm.

la forma, se caracterizó en vista lateral, arriñonada (con una curvatura pronunciada en el extremo radicular y suave en el extremo opuesto) y plana en vista ventral (Figura 3 A, B). El funículo persistente, acompaña la curvatura de la rafe y se expande desarrollando un arilo vestigial de aspecto papiráceo (Figura 3 A-C) y, en coincidencia con Corner (2009), se destacó por su longitud. Más aún, este autor, menciona como una particularidad de la semilla de las Anacardiaceae, la presencia de un funículo desarrollado y lo define como un arilo vestigial; en relación con su función, la relaciona con la indehiscencia del fruto, aunque sugiere que se deben profundizar los estudios.

El episperma fue delgado, membranoso y se encontró unido a restos de endosperma rodeando al embrión (Figura 3 D). Estas observaciones son semejantes a las mencionadas por Muñoz (2000), quien describe la consistencia membranosa del episperma. Del mismo modo, Corner (2009) especifica que el episperma de las Anacardiaceae está poco desarrollado y atribuye su escasa especialización en relación a la función protectora asumida por el endocarpo.

El embrión es curvo y ocupó la totalidad de la semilla, con los cotiledones blancos (10YR 8/1), foliosos, expandidos, de forma espatulada a levemente arriñonada con las nervaduras marcadas; la posición de los cotiledones es oblicua en relación con el eje embrional, la plúmula es rudimentaria y la radícula linear (Figura 3 E, F). Estas características coinciden con la descripción del embrión axial, subdivisión curvada de la clasificación de Martin (1946).

Con respecto a las características anatómicas de la semilla, el episperma se observó unitegumentado, con células de forma irregular en vista superficial, de paredes radiales rectas a levemente curvas, gruesas y con numerosas punteaduras (Figura 4 A, B), en coincidencia con lo mencionado por Corner (2009) para la familia. El arilo se caracterizó por sus células de forma redondeada a alargada, las paredes gruesas y con presencia de contenidos tánicos en su interior que dieron reacción positiva a la prueba de sulfato férrico (Figura 4 C). Como sustancias de reserva se identificaron lípidos y proteínas en los restos de endosperma y cotiledones, además en estos últimos también se identificó almidón (Figura 4 D-F). Si bien la capa delgada de endosperma, compuesta por lípidos y escaso almidón ya fue descrita por Muñoz (2000) y Corner (2009) para la familia, no se mencionan las proteínas identificadas en el endosperma, ni la presencia de sustancias de reservas en los cotiledones detallados en esta especie.

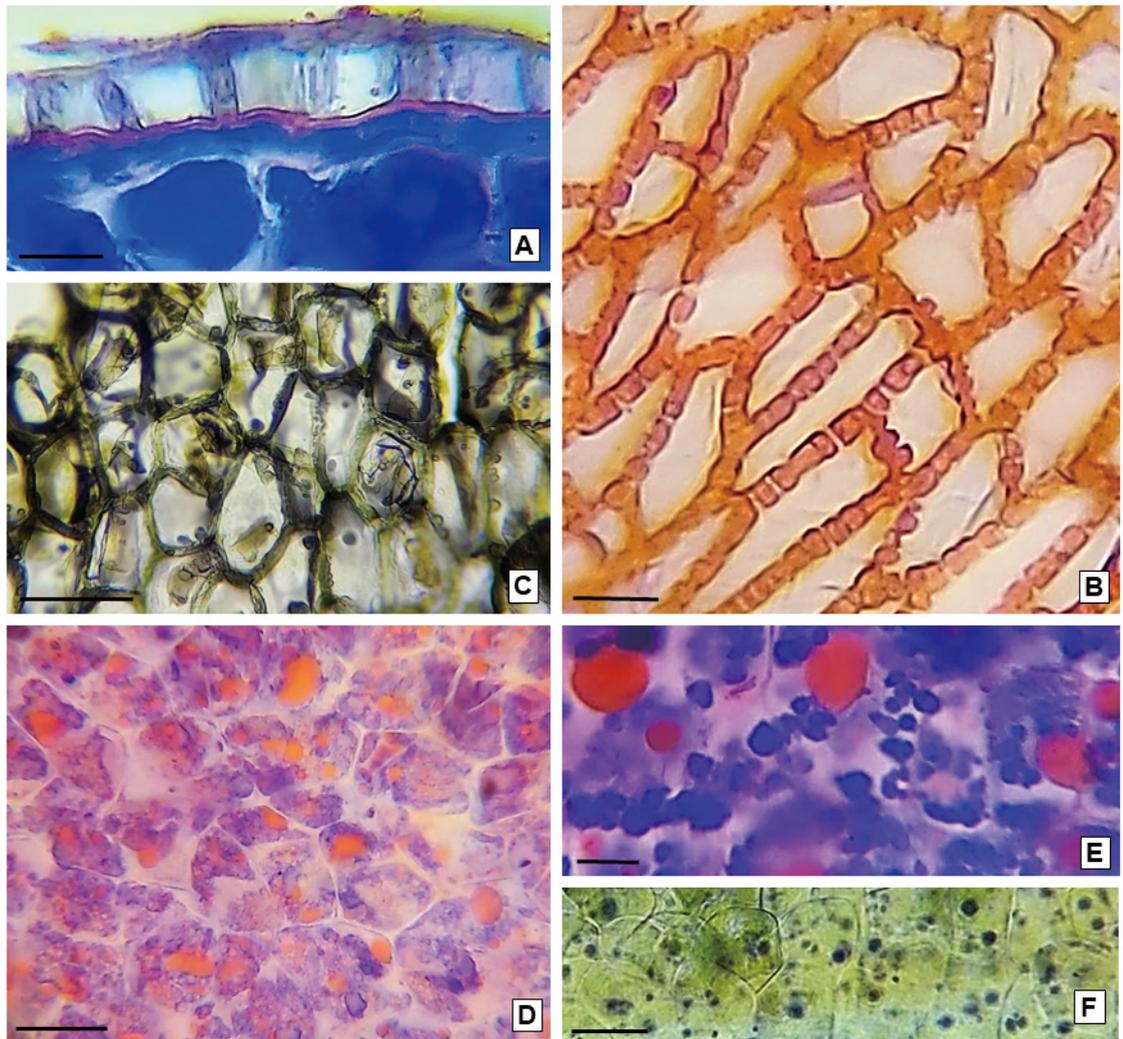
### Características morfológicas y anatómicas de la plántula en laboratorio

Se observó que, luego de la emergencia de la radícula, se desarrolló el hipocótilo que se alargó desde su base y se curvó; como consecuencia se elevaron los cotiledones (libres del pericarpo y episperma), enfrentados por sus caras adaxiales y protegiendo al ápice caulinar con una plúmula reducida. Los cotiledones presentaron consistencia carnosa, color rojo pálido (al igual que el hipocótilo) y la radícula desarrolló una raíz principal vigorosa de color marrón con abundantes tricomas absorbentes, sin raíces laterales (Figura 5 A, B). Al desplegarse los cotiledones, la cara adaxial se torna verde y adquiere función fotosintética y la cara abaxial vira al bordó, al igual que el hipocótilo (Figura 5 C, D). Este tipo de geminación coincide con la descripción realizada por Esau (1982) y Agüero et al. (2022) y es definida como germinación epígea. El desarrollo del hipocótilo curvo en la emergencia es semejante al identificado en *S. balansae* y *S. lorentzii* por Cáceres (2011), quien lo caracteriza por su forma “de u invertida”. A su vez, para estas dos especies, el autor menciona el color verde de los cotiledones, a diferencia del color bordó observado en la cara abaxial de los cotiledones de *S. marginata*, también mencionado por Joseau et al. (2013) para la misma especie.

En relación con la anatomía de la plántula, en las células epidérmicas de los cotiledones se identificaron taninos; el mesofilo dorsiventral presentó tres capas de parénquima en empalizada y diez de parénquima esponjoso. Las células del parénquima en empalizada se observaron en la primera capa, columnares y en las dos siguientes, rectangulares, todas con cloroplastos, mientras que las células del parénquima esponjoso presentaron forma redondeadas con sustancias de reserva (Figura 6 A).

El hipocótilo fue de contorno circular con dos valles apenas insinuados. Las células de la epidermis isodiamétricas presentaron abundantes tricomas no glandulares unicelulares y se identificaron taninos, tanto en las células epidérmicas propiamente dichas como en los tricomas; se observaron 3-4 capas de células colenquimatosas subepidérmicas en todo el contorno; además, presentó células taníferas cercanas a los haces vasculares (Figura 6 B, C).

En la raíz tetraarca se identificaron taninos en la corteza (Figura 6 D). Se observaron canales resiníferos esquizógenos, con presencia de células taníferas, asociados al floema de los haces vasculares de los cotiledones, el hipocótilo y la raíz



**Figura 4.** Anatomía de la semilla de *S. marginata*. A y B) Episperma en corte trasversal y vista superficial respectivamente; C) Células del arilo con tanino; D) Corte trasversal del endosperma, se observan gotas de lípidos de color naranja rojizo y proteínas de color azul; E) Corte trasversal de las células del cotiledón: gotas de lípidos y proteína; F) Células del cotiledón con gránulos de almidón en color azul. Escala: A, B y E: 10  $\mu$ m; C: 20  $\mu$ m; D y F: 40  $\mu$ m.

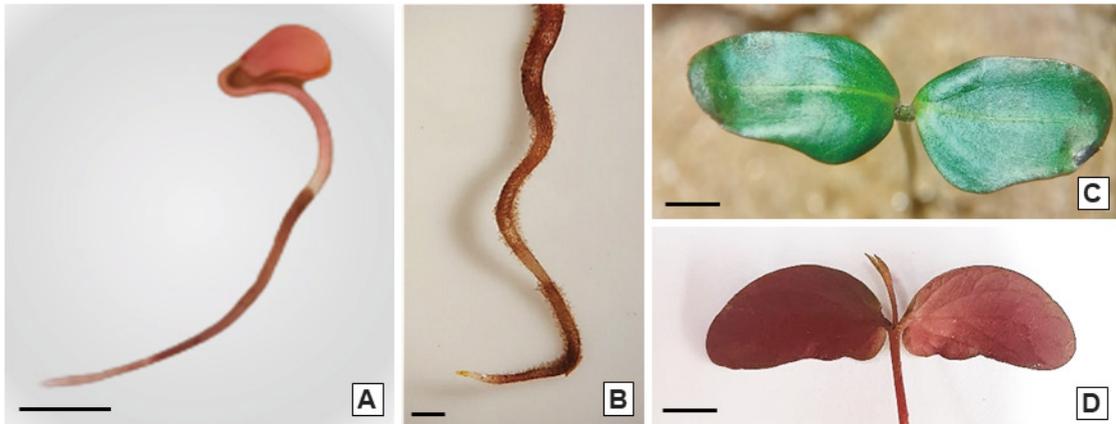
(Figura 6 E-G).

La caracterización de la plántula de *S. marginata* coincide con el tipo *Sophora*, según Ye (1983) y Sloanea y Eudertia de la clasificación de De Vogel (1980): plántulas con germinación fanerocotilar, con los cotiledones engrosados y función reservante y fotosintética.

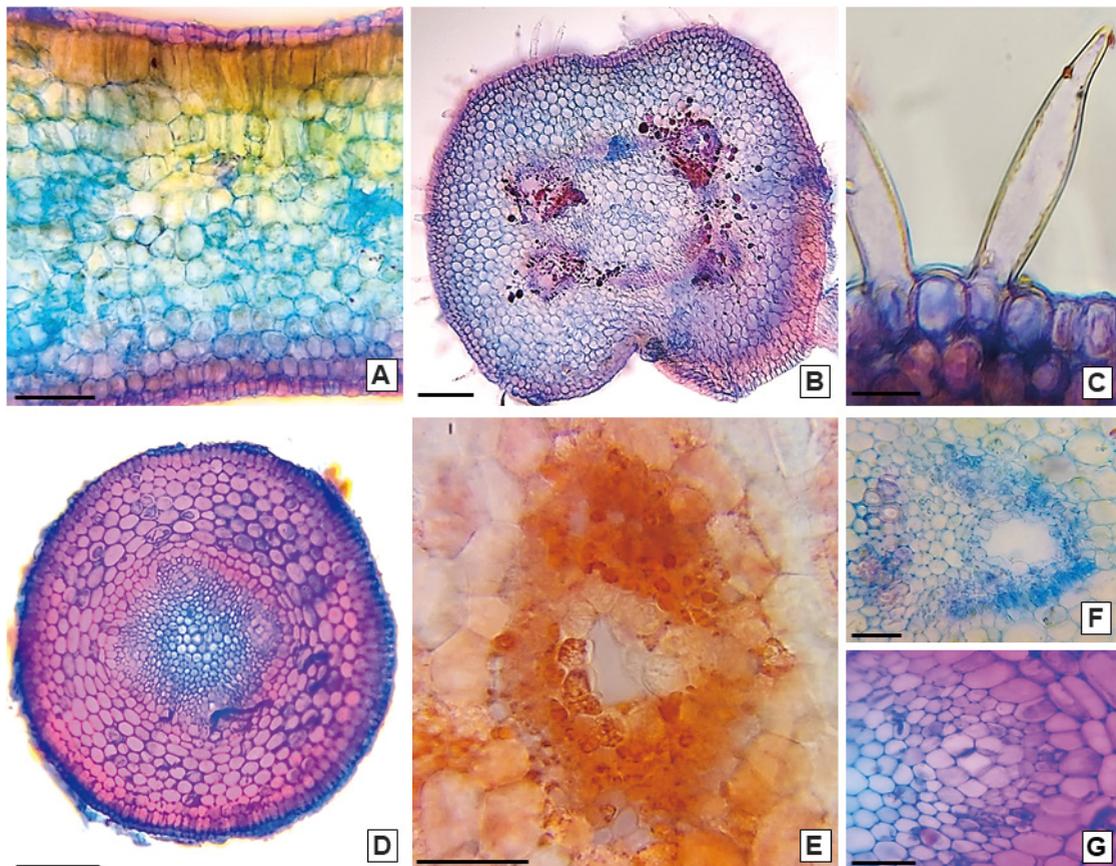
#### **Características morfológicas de la plántula en vivero**

La plántula en el vivero inició el estadio vegetativo de emergencia entre los 10-15

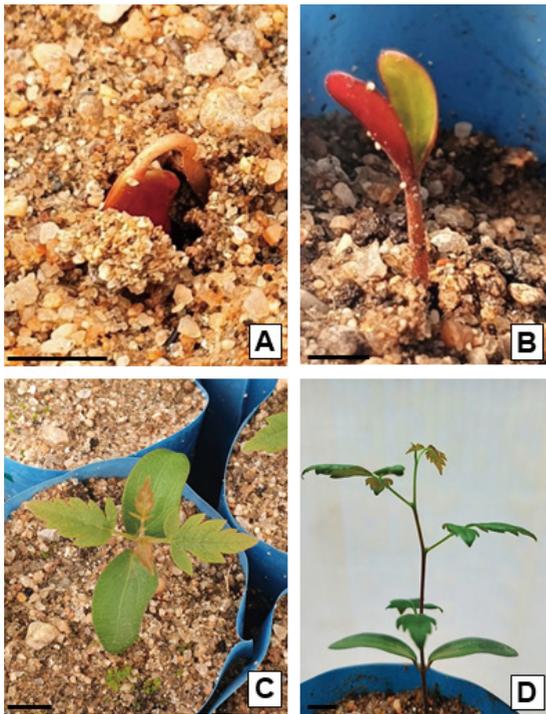
días desde la siembra y el estadio vegetativo cotiledonar a los veintidós días (Figura 7 A, B). A continuación, se desarrolló el epicótilo y a los treinta días desde la siembra se observó la aparición de un par de protofilos. La mayoría de las plántulas, 41,7 %, presentaron protofilos trifoliados, el 37,4 % unifoliados y el 20,9 % tri y unifoliados. Los protofilos se caracterizaron por la lámina dividida: pinnatisecta en el sector proximal y pinnatífida en el sector distal y por la disposición en verticilos dímeros (Figura 7 C). Los subsiguientes nomofilos (registrados hasta el séptimo), comenzaron a desarrollarse a partir de los cuarenta días, con la lámina compuesta



**Figura 5.** Morfología de la plántula de *S. marginata*. A) Plántula de una semana desde la germinación; B) Radícula con abundantes tricomas; C) Cotiledones con cara adaxial fotosintetizante; D) Cotiledones en vista abaxial. Escala: A: 5 mm; B-D: 2 mm.



**Figura 6.** Anatomía de la plántula de *S. marginata*. A) Corte transversal de la hoja cotiledonar; B) Transcorte del hipocotilo; C) Detalle de la epidermis del hipocotilo, se observan tricomas no glandulares unicelulares; D) Transcorte de radícula; E), F) y G) Detalle de canal resinífero en cotiledón, hipocotilo y radícula, se observan lípidos respectivamente. Escala: A y F: 50  $\mu$ m; B y D: 150  $\mu$ m; C, E y F: 25  $\mu$ m.



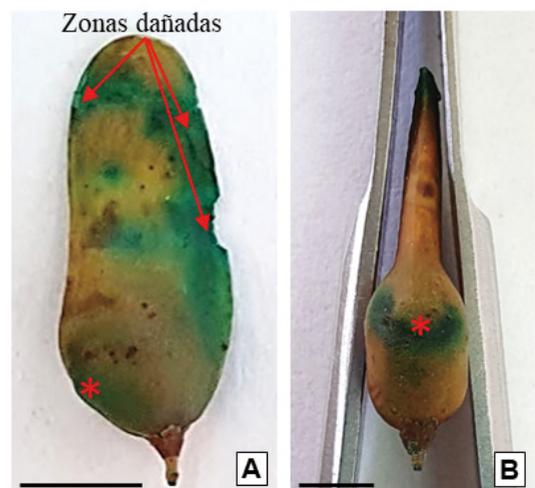
**Figura 7.** Germinación de la plántula de *S. marginata* en vivero. A) Emergencia de los cotiledones a catorce días de la siembra; B) Elongación del hipocótilo e inicio de la etapa cotiledonar a los siete días desde la emergencia; C) Plántula de un mes desde la germinación con dos pares de protofilos desarrollados; D) Plántula de dos meses desde la germinación, cotiledones dispuestos en verticilo dímero y los nomofilos con filotaxis alterna dística. Escala: A-D: 2 cm.

y filotaxis alterna dística; la hoja trifoliada se caracterizó por los folíolos proximales pinnatífidos y el folíolo distal pinnatisecto (Figura 7 D). Los cotiledones permanecieron fotosintéticos hasta los tres meses, momento en que se inicia su senescencia. En relación a las características de la hoja, difieren de las mencionadas en *S. balansae* por Cáceres (2011), quien menciona para esta especie hojas simples, elípticas, con márgenes enteros y pubescentes; asimismo, describe para *S. lorentzii* hojas trifoliadas con márgenes enteros y número creciente de folíolos durante el desarrollo.

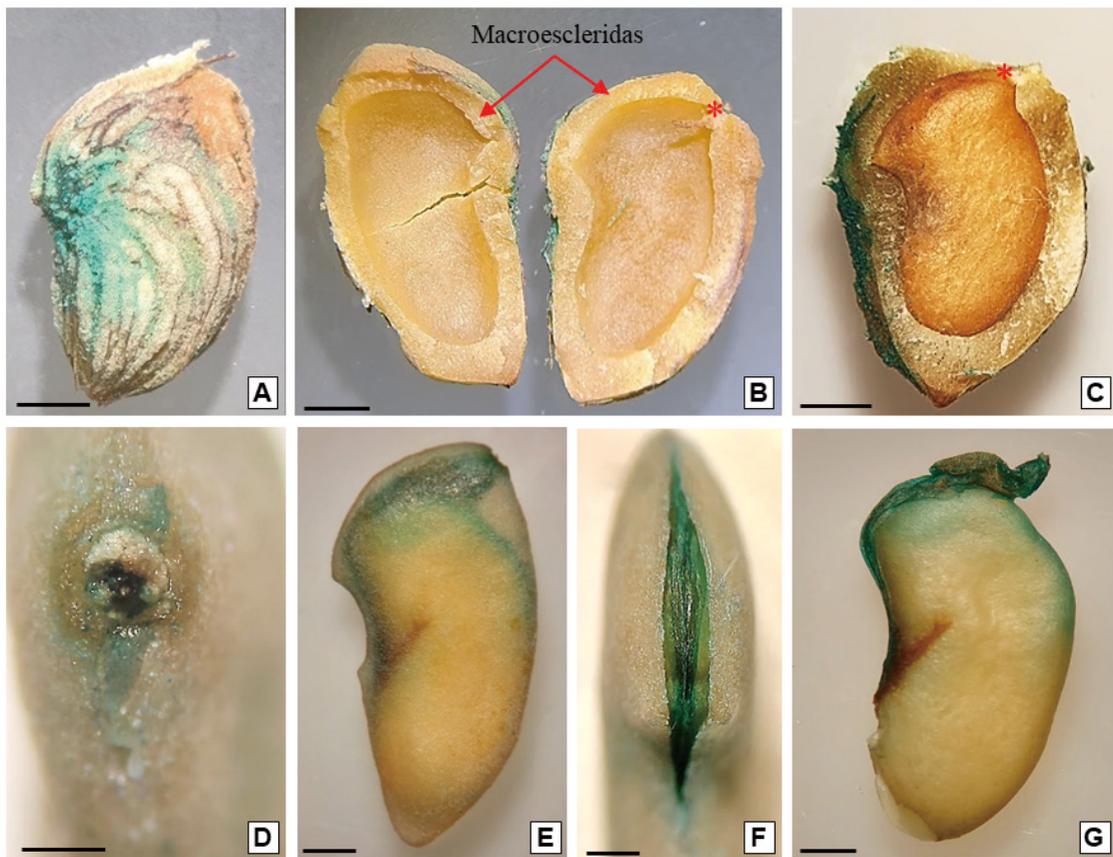
Por otro lado, la caracterización morfológica de la plántula de *S. marginata* coincide en general con la realizada por Joseau et al. (2013) para la misma especie; sin embargo, mencionan al primer par de hojas como trifoliadas, mientras que en el presente trabajo se observó dimorfismo foliar con presencia de protofilos sólo unifoliados, trifoliados o la combinación de ambos.

### Relaciones con las fases del proceso de germinación

Las observaciones sobre la zona inicial de entrada de agua en los frutos intactos sumergidos en verde rápido demostraron zonas teñidas que indican el ingreso del agua a través de lesiones en el epicarpo, causadas naturalmente y por la cicatriz del estilo (Figura 8 A, B), mientras que el mesocarpo se tiñó de manera diferenciada. Por un lado, el agua se distribuyó por el aerénquima coloreándolo de verde y, por otro lado, la capa inferior de macrosclereidas junto con el endocarpo permanecieron sin colorearse (Figura 9 A-C). En las semillas cubiertas por el endocarpo se observó el funículo teñido, que atraviesa el mesocarpo y endocarpo e interrumpe la continuidad de estos y de las macrosclereidas que constituyen la barrera física; además, se tiñó el arilo (Figura 9 D, E). Este último, al embeberse, aumentó su volumen y se expandió en sentido horizontal, ejerciendo presión sobre las células del endocarpo (con orientación radial), lo que provocó su apertura en la zona de debilidad predeterminada, presente en la línea de sutura dorsal del fruto y contribuyó con el ingreso del agua al lóculo (Figura 9 F). Por otro lado, la apertura del endocarpo en esta zona coincide con el área de emergencia de la radícula y explica la participación del arilo embebido como precursor de la emergencia radicular. Este mecanismo es semejante al explicado por Werker (1997) con el nombre de “expansión–contracción”, proceso relacionado con el comportamiento de las paredes



**Figura 8.** Zonas de entrada de agua en el fruto de *S. marginata*. A) Fruto en vista lateral, se observa el pericarpo con las zonas dañadas y teñidas de verde; B) se observa la cicatriz del estilo teñida de verde. Referencias: \*: cicatriz del estilo. Escala: A y B: 5 mm.



**Figura 9.** Zonas de entrada de agua en el fruto y semilla de *S. marginata*. A) Se observa el mesocarpo teñido; B) Corte longitudinal del mesocarpo, se observan las macroescleroidas y el funículo; C) Corte longitudinal del mesocarpo y vista sagital de la semilla, se evidencia la entrada de agua con el oscurecimiento del mesocarpo y endocarpo; D) Semilla cubierta por el endocarpo en vista frontal con el funículo teñido; E) Por transparencia se observa el arilo teñido; F) Vista superior del endocarpo, se observa la sutura dorsal y por debajo el arilo humedecido; G) Semilla con el arilo totalmente teñido, en el episperma la tinción avanza desde esta zona hacia el resto de la semilla. Abreviaturas: ar: arilo. Escala: A-C: 2,5 mm; D y F: 0,5 mm; E y G: 1 mm.

de las células muertas y que permite la liberación de las semillas encerradas en el fruto.

Si bien Corner (2009) y Baskin y Baskin (2014) mencionaron la impermeabilidad del endocarpo, el mecanismo descrito en este trabajo en relación a la entrada de agua y su relación con la germinación, explica el comportamiento de estos tejidos en la ruptura de la dormición física planteada por estos autores.

En la semilla, se registró la tinción superficial del episperma mediante el avance en sentido longitudinal y descendente de la coloración verde; sin embargo, el verde rápido no atravesó la pared celular (Figura 9G). El embrión, aunque no se teñió de verde, presentó signos típicos de imbibición, como el aspecto vítreo y aumento del volumen, lo que evidenció la permeabilidad del episperma al agua,

pero no al verde rápido. Igual comportamiento, en relación al impedimento del verde rápido para atravesar el episperma, fue registrado en las semillas de los frutos indehiscentes de *Ruprechtia apetala* y *E. plantagineum* en trabajos realizados por Díaz y Molinelli (2018) y Molinelli et al. (2020). En estudios similares, Mattana et al. (2012) analizaron la entrada de agua en la semilla de *Ribes multiflorum* y sugirieron el comportamiento diferencial de la cubierta seminal frente al agua, con un peso molecular de 18,015 g/mol, en contraste con otros colorantes que poseen moléculas de mayor tamaño, como la del verde rápido con 808,843 g/mol.

Por otro lado, al analizar las características del fruto y su relación con el proceso de germinación, la descripción anatómica del pericarpo

estableció la función de barrera mecánica de las macrosclereidas lignificadas del mesocarpo. Estos resultados respaldan las observaciones de Agüero et al. (2022) realizadas en ensayos de germinación de esta especie; en donde las semillas no germinadas del tratamiento testigo (no escarificadas) presentaron los embriones con signos visuales de imbibición, mientras que en las semillas escarificadas, el corte del mesocarpo produjo mejores porcentajes de germinación. Con la escarificación, estos autores vencieron el impedimento ocurrido durante la fase de emergencia radicular causado por las macrosclereidas lignificadas del mesocarpo.

## CONCLUSIONES

La definición sámara para el fruto *S. marginata*, según la clasificación botánica, constituye un aporte novedoso fundamentado en función de las características morfológicas y anatómicas. Se describen por primera vez las particularidades morfológicas y anatómicas del pericarpo y se complementan con fotografías. Se comprueba morfológicamente la presencia de la capa de macrosclereidas lignificadas del mesocarpo y se discute su función como barrera mecánica durante la fase de emergencia radicular. Se complementa la descripción a nivel de género, como la composición de los cristales de la capa cristalífera y la identificación de las osteoesclereidas en el endocarpo.

Se caracteriza por primera vez la morfología y anatomía de la semilla y se confirma la presencia del arilo vestigial para la especie. En el embrión, se comprueba morfológicamente la función reservante de los cotiledones.

A nivel de plántula, la descripción detallada corrobora la morfología de la plántula de vivero y establece los caracteres diagnósticos que contribuyen con el reconocimiento de esta especie en el estado de plántula, tales como el color de los cotiledones, la morfología de los protofilos y nomofilos.

En relación al proceso de germinación, se determina el camino que realiza el agua para atravesar el pericarpo e ingresar en la semilla y se comprueba fisiológicamente que las macrosclereidas del mesocarpo constituyen la barrera física a la entrada de agua. Además, se registra morfológicamente la función del arilo y su influencia en la apertura del endocarpo en la fase de imbibición, que favorece la posterior emergencia radicular.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los Laboratorios de Microscopía Óptica, al Laboratorio de Análisis de Semillas (LASIDYS) y al Vivero Forestal Educativo pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNC.

## BIBLIOGRAFÍA

- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) (2003). *Farmacopea Argentina* (7<sup>a</sup> ed., vol. 1). Ministerio de Salud de la Nación Argentina. [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/farmacopea\\_argentina\\_2013\\_ed.7.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/farmacopea_argentina_2013_ed.7.pdf)
- Agüero, C. G., Joseau, M. J., Pereyra, G., Herrera Álvarez, A., Miserere, C. y Frassoni, J. E. (2022). Quality Determination and Conservation Method of *Schinopsis marginata* Engler Seeds/Fruits of Two Populations in Córdoba Province, Argentina. *International Journal of Green and Herbal Chemistry*, Section B; 11(3), 257-268. <https://doi.org/10.24214/IJGHC/HC/11/3/25768>
- Barberis, I., Moggi, V., Oakley, L., Alzugaray, C., Vesprini, J. y Prado, D. (2012). Biología de especies australes: *Schinopsis balansae* Engl. (Anacardiaceae). *Kurtziana*, 37(2), 59-86.
- Baskin, J. M. y Baskin, C. C. (2014). *Seeds Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination* (2<sup>a</sup> ed.). Academic Press.
- Cabrera, A. L. (1976). *Regiones fitogeográficas argentinas. Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería* (2<sup>a</sup> ed., tomo 2, fascículo 1). ACME.
- Cáceres, D. (2011). *Plántulas de especies forestales de la provincia de Formosa*. (1<sup>a</sup> ed.) Universidad Nacional de Formosa.
- Corner, E.J.H. (2009). *The Seeds of Dicotyledons* (2<sup>a</sup> ed.). University Press.
- Demaio, P., Karlin, U.O. y Medina, M. (2015). *Árboles Nativos de Córdoba*. Tomo I: Centro y Cuyo. Ecoval.
- De Vogel, E. F. (1980). *Seedling of dicotyledons. Structure, development, types*. Centre for Agricultural Publishing and Documentation.
- Díaz, M. y Molinelli, M. (2018). Caracterización del fruto y la semilla de *Ruprechtia apetala* (Polygonaceae) en relación con la entrada de agua y la germinación. *Bonplandia*, 27(1), 5-22. <https://doi.org/10.30972/bon.2712982>
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M. y Robledo, C.W. (versión 2021). [Software]. Córdoba, Argentina: Centro de Transferencia Infostat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba.

- Esau, K. (1982). *Anatomía de las plantas con semilla*. Hemisferio Sur S. A.
- Fahn, A. (1985). *Anatomía vegetal*. Ediciones Pirámide.
- Flores, C. B., Zapater, M. A. y Sührling, S. (2013). Identidad taxonómica de *Schinopsis lorentzii* y *Schinopsis marginata* (Anacardiaceae). *Darwiniana*, 1(1), 25-38.
- Font Quer, P. (2007). *Diccionario de Botánica* (3ª ed.). Península.
- Gama-Arachchige, N. S., Baskin, J. M., Geneve, R. L. y Baskin, C. C. (2013). Identification and characterization of ten new water gaps in seeds and fruits with physical dormancy and classification of water-gap complexes. *Annals of botany*, 112(1), 69-84. <https://doi.org/10.1093/aob/mct094>
- GBIF Secretariat (2019). *Schinopsis marginata* Engl. *GBIF Backbone Taxonomy*. <https://doi.org/10.15468/39omei>
- González, A. y Vesprini, J. (2010). Anatomy and fruit development in *Schinopsis balansae* (Anacardiaceae). *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 67(2), 103-112. <https://doi.org/10.3989/ajbm.2254>
- International Seed Testing Association (ISTA) (2022). *International Rules for Seed Testing*. International Seed Testing Association.
- Joseau, M. J., Conles, M. Y. y Verzino, G. E. (2013). *Conservación de Recursos Forestales Nativos de Argentina. El cultivo de plantas leñosas en vivero y a campo*. Brujas.
- Luque, R., De Sousa, H. C. y Kraus, J. E. (1996). Métodos de coloração de Roeser (1972): modificado-e Kropp (1972) visando a substituição do azul de astra por azul de alcião 8GS ou 8GX. *Acta Botânica Brasileira*, 10(2), 199-212. <https://doi.org/10.1590/S0102-33061996000200001>
- Martin, A. C. (1946). The comparative internal morphology of seeds. *The American Midland Naturalist*, 36(3), 513-660.
- Mattana, E., Pritchard, H. W., Porceddu, M., Stuppy, W. H. y Bacchetta, G. (2012). Interchangeable effects of gibberellic acid and temperature on embryo growth, seed germination and epicotyl emergence in *Ribes multiflorum* ssp. *Sandaliticum* (Grossulariaceae). *Plant Biology*, 14(1), 77-87. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2011.00476.x>
- Molinelli, M., Tarifa, R. y Perisse, P. (2020). Morpho-Anatomy of the *Echium plantagineum* L. (Boraginaceae) Diaspores in Relation with Water Uptake and Germination. *Phyton*, 89(2), 345-360. <https://doi.org/10.32604/phyton.2020.08796>
- Munsell Color Company. (2000). *Munsell soil color charts*. Gretagmacbeth, Munsell Color.
- Muñoz, J. de D. (2000). Anacardiaceae. *Flora Fanerogámica Argentina*, 65, 1-28. CONICET.
- Ordenanza N.º 12.472 de 2015 [Consejo Deliberante de la ciudad de Córdoba]. Plan Forestal de la ciudad de Córdoba, 2 de diciembre de 2015. Municipalidad de Córdoba, Argentina.
- Spjut, R. W. (1994). *A systematic treatment of fruit types*. *Memoris of the New York Botanical Garden*, 70.
- Verzino, G. E., Hernández, R. A., Meehan, A. R., Joseau, M. J., Osés, D. H., Frassoni, J. E., Clausen, G., Salgado, C. E., Sosa, E. E., Cisternas, A. P. y Sánchez, S. S. (2016). *Flora del bosque nativo del centro de Argentina: valor paisajístico, tintóreo y apícola*. Encuentro.
- Vidal, W. N. (1978). Considerações sobre as sâmaras que têm ala paranuclear. *Rodriguésia*, 30(47), 109-168.
- Voyiatzis, D. G. (1992). The pathway of water entry into olive (Oleaeuropeae) stones. *Seed Science and Technology*, 20(3), 715-717.
- Wannan, B. S. y Quinn C. (1990). Pericarp structure and generic affinities in the Anacardiaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 102(3), 225-252. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1990.tb01878.x>
- Werker, E. (1997). *Seed Anatomy*. Gebrüder Borntraeger.
- Ye, N. (1983). Studies on the seedling types of dicotyledonous plants (Magnoliophyta, Magnoliopsida). *Phytologia*, 54(3), 161-189.
- Zarlavsky, G. E. (2014). *Histología vegetal: técnicas simples y complejas*. (1ª ed). Sociedad Argentina de Botánica.
- Zomlefer, W. B. (2004). *Guía de las familias de plantas con flor*. Acribia.