

NUESTRA CEREZA: EXPLORANDO LA BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE *Eugenia involucrata*

Trujillo, C^{1*}, Boffano L¹, Cazzola V¹, Martínez N¹, Riella V¹, Hormaza I², Speroni G¹

¹Lab. Botánica, Depto. Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. ²Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea La Mayora (IHSM La Mayora-UMA-CSIC), Algarrobo-Costa, España
ctrujillo@fagro.edu.uy

Palabras clave: Frutal nativo, Cereza de monte, fenología, modos reproductivos.

Introducción

Eugenia involucrata DC (Myrtaceae: Myrteae), “Cereza de monte”, pertenece al género polifilético *Eugenia* (Vasconcelos et al. 2017), sect. Parafilética Phyllocalyx, sección que se caracteriza por pedúnculos con brácteas y sépalos vistosos, más grandes que los pétalos (Bünger et al. 2015, Bünger et al. 2016). La especie se distribuye en Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay y Uruguay (Brussa y Grela 2007, Bünger et al. 2015). En Uruguay habita bosques ribereños de los departamentos de Artigas, Paysandú y Salto (Brussa y Grela 2007).

Los ejemplares de la especie son árboles o arbustos, perennes, heliófilos, selectivamente higrófilos, de corteza caduca (Brussa y Grela 2007, Bünger et al. 2015, Carvalho 2009, Degenhardt et al. 2007). *Eugenia involucrata* florece de julio a octubre (noviembre) y fructifica de setiembre a noviembre (diciembre, enero) (Athayde et al. 2009, Camlofski 2008, Carvalho 2009, Danner et al. 2010, Rego et al. 2006b, 2006a), presenta flores perfectas, blancas, axilares, solitarias o en grupos de 2 a 5, androceo con varios ciclos de estambres; frutos carnosos rojo violáceos, elipsoides (Brussa y Grela 2007, Bünger et al. 2015, Carvalho 2009, Degenhardt et al. 2007, Rotman 1995, Sausen et al. 2009).

En bosques de Araucaria y de floresta ombrófila mixta de Brasil observaron que el polinizador principal para *E. involucrata* es *Apis mellifera* (Carvalho 2009, Rego et al. 2006a, 2006b). El modo de reproducción reportado para la especie es la autogamia (Carvalho 2009), sin embargo, hay antecedentes de que la mayoría de las Mirtáceas de frutos carnosos son alógamas (Lughadha y Proença 1996).

Hay un creciente interés en la región por los frutales nativos y sus posibles usos. Trabajos realizados en Brasil y Uruguay destacan las buenas cualidades de los frutos de *Eugenia involucrata* para su consumo en fresco e industrialización (Camlofski 2008, Danner et al. 2010, Donadio y Moro 2004, Vignale et al. 2016). Al igual que en otras especies del género, en *E. involucrata* han analizado la composición química y las propiedades de algunos compuestos presentes en hojas, frutos y semillas, encontrando actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas y antifúngicas (Infante et al. 2016, Nicácio et al. 2017, Sato et al. 2018, Toledo et al. 2020). Se destacan también sus cualidades como especie ornamental y apícola (Arnhold 2016, Donadio y Moro 2004, Rego et al. 2006a).

En Uruguay la especie está incluida en el Programa de Selección de Frutales nativos con potencial comercial (Facultad de Agronomía, INIA Las Brujas, Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca). La Estación Experimental de Facultad de Agronomía en Salto (EEFAS) y la Estación Experimental “Wilson Ferreira Aldunate” en Las Brujas, Canelones (INIA Las Brujas), tienen 12 materiales selecciones en sus jardines de introducción (Vignale et al. 2016). Es una

de las especies evaluadas en el proyecto “Caracterización, conservación y uso de la diversidad genética de especies frutales nativas de la familia Myrtaceae de Brasil, Argentina y Uruguay” (CABBIO 2020-2023). En el marco de ese proyecto se realizan estudios sobre la biología reproductiva y la fenología floral de materiales seleccionados de la especie, para detectar si existen barreras que limiten la reproducción y fructificación. Se presentan resultados preliminares sobre los estudios de fenología de la floración, fenología intrafloral, identificación de polinizadores efectivos y modos reproductivos en cuatro materiales seleccionados (IX3, XIV2, XVI3 y XVI4) ubicados en EEFAS. Los ensayos de campo se realizaron en 2019 y 2020.

Fenología de la floración

Se determinaron los períodos de floración (Dafni 1992, Shivanna y Tandon 2014) en plantas cultivadas en la EEFAS (IX3, XIV2, XVI3 y XVI4) que florecieron desde fines de setiembre a mediados de octubre. Los períodos de floración tuvieron una duración de 12 a 15 (20) días (Fig. 1). Se consideró como inicio de la floración aproximadamente un 10 % de flores abiertas y como final un 90 % de flores abiertas. La floración de XVI3 en 2020 fue escasa. Los períodos de floración de las plantas fueron sincronizados en ambos años durante el mes de octubre.

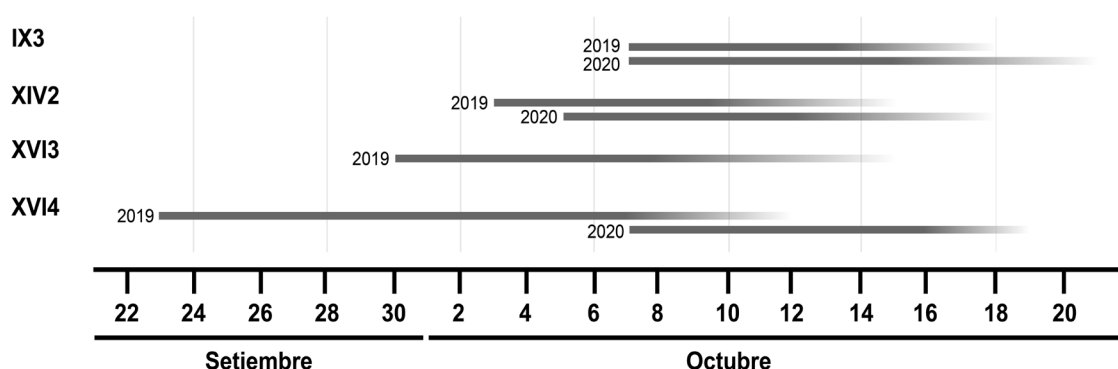


Figura 1. Períodos de floración 2019 y 2020 de las plantas de *Eugenia involucrata* (IX3, XIV2, XVI3 y XVI4) cultivadas en la Estación Experimental de Facultad de Agronomía en Salto.

Fenología intrafloral

La fenología intrafloral (Speroni et al. 2009) se estudió en las mismas plantas citadas anteriormente. Las flores se originan en los renuevos vegetativos del año, son axilares y solitarias. A veces parecen flores agrupadas debido a la presencia de entrenudos cortos que las aproximan unas a otras. Las flores son perfectas y actinomorfas. Los estados florales definidos a partir de la observación de los cambios morfo-funcionales de flores marcadas fueron: botón floral (E0), botón floral pre-antesis (E1), flor en antesis (E2), flor de anteras ocre (E3) y flor senescente (E4) (Fig. 2). El tiempo de vida de la flor (Primack 1985, Ashman y Schoen 1995), que se considera el tiempo que transcurre desde flor abierta (E2) a flor senescente (E4), fue de 27 a 35 horas. Los botones florales pre-antesis (E1) aparecen en las plantas durante la tarde, aproximadamente a las 16:00, y abren aproximadamente a partir de las 23:00. Algunos botones florales que se diferencian durante la mañana, próximo a las 9:00, abren a partir de las 18:00. La dehiscencia de anteras se da en flores (E2) aproximadamente entre las 7:00 y las 9:00 de la mañana.



Figura 2. Estados florales en plantas de *Eugenia involucrata* (IX3, XIV2, XVI3 y XVI4) cultivadas en la Estación Experimental de Facultad de Agronomía en Salto

Polinizadores efectivos

Los visitantes florales observados pertenecen a Apoideae, Coleoptera, Curculionidae, Syrphoidea y Vespoideae. Los polinizadores efectivos, que contactan su cuerpo con ambos verticilos fértiles de las flores para transportar el polen, son representantes de Apoideae. Se registraron traslados entre flores de la misma planta y hacia flores de plantas vecinas de la misma especie. El polen es el recurso floral buscado por la mayor parte de los visitantes florales. La actividad de los visitantes comienza en el rango horario de dehiscencia de las anteras, atraídos por la liberación del polen, y la actividad es notoria a lo largo de toda la mañana, inclusive hasta las 13:00 horas. Un solo visitante floral (Vespoideae) se acercó a las flores por néctar. La presencia de este recurso se reduce a una película brillante en la superficie superior del ovario. Se percibe un aroma dulce en las flores durante la noche y el amanecer. No se registraron visitantes florales en la noche.

Modos de reproducción

Se realizaron polinizaciones dirigidas entre las plantas IX3, XIV2, XVI3 y XVI4, utilizando diferentes orígenes de polen, emasculaciones y aislamiento de flores, para determinar el efecto del origen del polen y la necesidad de vector de polinización. Los tratamientos llevados adelante verificaron autogamia, xenogamia, apomixis autónoma y control (Kearns e Inouye 1993). Las flores tratadas se dejaron en la planta hasta cosecha de fruto como variables indicadoras del éxito reproductivo en cada tratamiento. Se obtuvieron más frutos por xenogamias que por autogamia, los frutos control fueron menos que los esperados. No se obtuvieron frutos en apomixis autónoma. Las semillas de los frutos se evaluaron en la germinación y se obtuvo una progenie para futuros estudios. Flores adicionales de los tratamientos de autogamia y xenogamia fueron fijadas en FAA (Formol, ácido acético y alcohol 70%) a diferentes períodos post-polinización (8, 12, 16, 24, 32, 36 y 48 horas post-polinización) para determinar las tasas de desarrollo de tubos polínicos y si existen barreras de incompatibilidad estigma/estilo. Los tubos polínicos se observaron con reacción fluorocromática con azul de anilina como fluorocromo (Kearns e Inouye 1993). No se observaron incompatibilidades estigma/estilo en autogamia y xenogamias; además, sin importar quién sea el dador y el receptor de polen, las tasas de desarrollo de tubos polínicos no mostraron grandes diferencias en los diferentes tiempos post-polinización. Después de polinizada una flor, a las 24 horas los tubos polínicos se encontraron próximos a recorrer la totalidad del estilo, recién a las 32 horas post-polinización se vieron tubos polínicos en el ovario. En general, a las 32 horas y siempre a 36 y 48 horas post-polinización, hay tubos polínicos entre los óvulos, en estos últimos horarios se observaron tubos polínicos ingresando a los óvulos (Fig. 3). No se observaron barreras reproductivas entre el estigma y la entrada de los tubos polínicos a los óvulos de la flor.

Se continúa explorando la biología reproductiva de la especie para generar conocimientos que aporten a los programas de mejoramiento y alcanzar la etapa de manejo productivo.

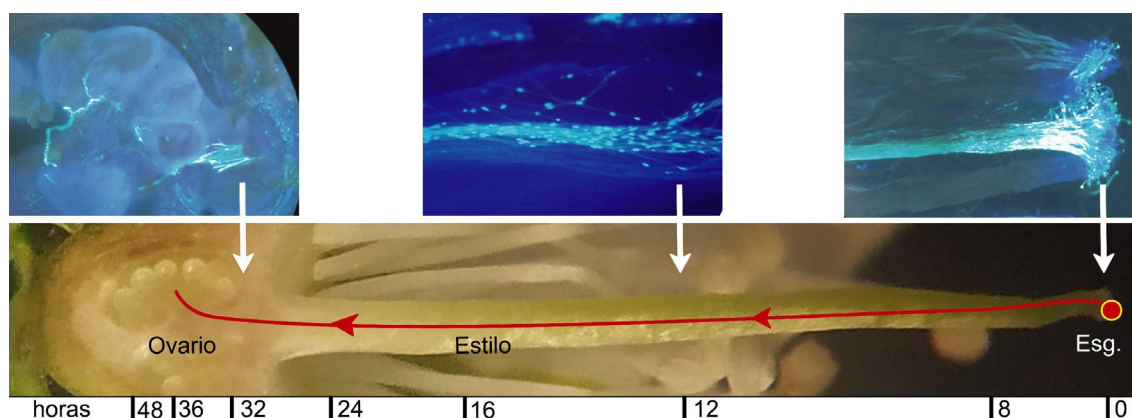


Figura 3. Avance de tubos polínicos desde el estigma al ovario de la flor de *Eugenia involucrata*. La escala muestra el máximo avance alcanzado en los diferentes horarios post-polinización, de 8 a 48 horas. (Fotos superiores microscopia de fluorescencia; en rojo dirección del desarrollo de los tubos polínicos. Esg., estigma).

Referencias bibliográficas

Arnhold EA. 2016. Caracterização físico-química, sensorial e botânica de amostras de mel de *Apis mellifera* da região oeste do Paraná, ortigueira-Pr e palmeira das missões-Rs. Tesis de Maestría. Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná.

Ashman T-L, Schoen DJ. 1995. Floral longevity: fitness consequences and resource costs. En: Lloyd DG, BARRETT SCH (Eds.). *Floral biology. Studies on floral evolution in animal pollinated plants*. Chapman & Hall. New York.

Atayde EA, Giehl ELH, Budke JC, Gesing JPA, Eisinger SM. 2009. Fenología de espécies arbóreas em uma floresta ribeirinha em Santa Maria, sul do Brasil. *Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre*, 7(1): 43–51.

Brussa C, Grela I. 2007. Flora arbórea del Uruguay, con énfasis en las especies de Rivera y Tacuarembó. COFUSA. Uruguay, 544 p.

Bünger MdeO, Einsehl P, Figueiredo MLN, Stehmann JR. 2015. Resolving Species Delimitations in the *Eugenia involucrata* Group (*Eugenia* sect. *Phyllocalyx* - Myrtaceae) with Morphometric Analysis. *Systematic Botany*, 40(4): 995–1002.

Bünger MdeO, Mazine FF, Forest F, Bueno ML, Stehmann JR, Lucas EJ. 2016. The evolutionary history of *Eugenia* sect. *Phyllocalyx* (Myrtaceae) corroborates historically stable areas in the southern Atlantic forests. *Annals of Botany*, 118(7): 1209–1223.

Camlofski AMDO. 2008. Caracterização do fruto de Cerejeira (*Eugenia involucrata* DC) visando seu aproveitamento tecnológico. Tesis de Maestría: Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Carvalho PER. 2009. Cerejeira - *Eugenia involucrata*. Comunicado técnico 224, Embrapa Florestas. Colombo, Brasil.

Dafni A. 1992. *Pollination ecology: a practical approach*. IRL Press, Oxford, New York.

Danner MA, Citadin I, Sasso SAZ, Sachet MR, Ambrósio R. 2010. Fenologia da floração e frutificação de Mirtáceas nativas da floresta com Araucária. *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP*, 32(1): 291–295.

Degenhardt J, Franzon RC, Rosa da Costa R. 2007. Cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata*). Documentos 211. Embrapa Clima Temperado. Pelotas, Brasil.

- Donadio LC, Moro FV. 2004. Potential of Brazilian *Eugenia* Myrtaceae – as Ornamental and as a Fruit Crop. En: Albrigo LG, Galán Saúco V. (Eds.), Proc. XXVI IHC – Citrus, Subtropical and Tropical Fruit Crops. Acta Hort. 632, ISHS 2004. pp. 65–68.
- Infante J, Rosalen PL, Lazarini JG, Franchin M, Alencar SMD 2016. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Unexplored Brazilian Native Fruits. *PLOS ONE*, 11(4): e0152974.
- Kearns A, Inouye DW. 1993. Techniques for pollination biologists. University Press Colorado, Niwot.
- Lughadha EN, Proença C. 1996. A survey of the reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 83(4): 480–503.
- Nicácio AE, Rotta EM, Boeing JS, Barizão ÉO, Kimura E, Visentainer JV, Maldaner L. 2017. Antioxidant Activity and Determination of Phenolic Compounds from *Eugenia involucrata* DC. Fruits by UHPLC-MS/MS. *Food Analytical Methods*, 10(8): 2718–2728.
- Primack RB. 1985. Longevity of individual flowers. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 15-37.
- Rego GM, Lavoranti OJ, Neto AA. 2006a. Floração e Frutificação da Cerejeira-do-Mato, em Áreas Fragmentadas da Floresta Ombrófila Mista, no Município de Colombo. Circular Técnica 129, Embrapa Florestas. Colombo, Brasil.
- Rego GM, Lavoranti OJ, Neto AA. 2006b. Monitoramento dos Estádios Fenológicos Reprodutivos da Cerejeira-do-Mato. Comunicado técnico 171, Embrapa Florestas. Colombo, Brasil.
- Rotman AD. 1995. Especies argentinas del genero eugenia. *Bol. Soc. Argent. Bot.*, 31(1–2): 69–93.
- Sato TS, Medeiros TMde, Hoscheid J, Prochnau IS. 2018. Proposta de formulação contendo extrato de folhas de *Eugenia involucrata* e análise da atividade antimicrobiana. Proposal of a formulation containing leaves extract of *Eugenia involucrata*. *Revista Fitos*, 12(1): 68–82.
- Sausen T, Löwe T, Silva Figueiredo L, Buzatto C. 2009. Avaliação da atividade alelopática do extrato aquoso de folhas de *Eugenia involucrata* DC. e *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret. *Polibotânica*, 27: 145–158.
- Shivanna KR, Tandon R. 2014. Reproductive Ecology of Flowering Plants: A Manual. Springer, New Delhi.
- Speroni G, Izaguirre P, Bernardello G, Franco J. 2009. Intrafloral phenology of *Trifolium polymorphum* Poir. (Leguminosae) aerial flowers and reproductive implications. *Acta Bot. Bras*, 23 (3): 881-888.
- Toledo AG, Souza JGdeLde, Silva JPBda, Favreto WAJ, Costa WFda, Pinto FGdaS. 2020. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of leaves of *Eugenia involucrata* DC. *Bioscience Journal*, 36(2): 568–577.
- Vasconcelos TNC, Proença CEB, Ahmad B, Aguilar DS, Aguilar R, Amorim BS, Campbell K, Costa IR, De-Carvalho PS, Faria JEQ, Giaretta A, Kooij PW, Lima DF, Mazine FF, Peguero B, Prenner G, Santos MF, Soewarto J, Wingler A, Lucas EJ. 2017. Myrteae phylogeny, calibration, biogeography and diversification patterns: Increased understanding in the most species rich tribe of Myrtaceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 109: 113–137.
- Vignale B, Cabrera D, Rodríguez P, Machado G. 2016. Selección de frutales nativos en Uruguay. *Horticultura Argentina*, 35(87): 19–29.