

## AVANCES EN LOS ESTUDIOS SOBRE ARAZÁ

Speroni, G.<sup>1\*</sup>, C. Mazzella<sup>1</sup>, C. Pritsch<sup>1</sup>, M. Bonifacino<sup>1</sup>, M. Vaio<sup>1</sup>, M. Souza-Pérez<sup>1</sup>, S. Vázquez<sup>1</sup>, S. González<sup>1</sup>, C. Millán<sup>1</sup>, C. Trujillo<sup>1</sup>, M. Quezada<sup>1</sup>, M. Raffo<sup>1</sup>, J. Scaltritti<sup>1</sup>, Y. Cazzullo<sup>1</sup>, J. Bernal<sup>1</sup>, A. Borges<sup>2</sup>, B. Vignale<sup>3</sup>, D. Cabrera<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dpto. Biología Vegetal, Facultad Agronomía, <sup>2</sup>Dpto. Biometría, Estadística y Computación, <sup>3</sup>Estación Experimental Facultad Agronomía Salto (EEFAS), <sup>4</sup>Programa de Investigación en Producción Frutícola - Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INIA, Las Brujas. \* Av. E. Garzón 780. CP 12900. Montevideo. speronig@fagro.edu.uy

**Palabras clave:** *Psidium cattleianum*, biología reproductiva, recursos fitogenéticos

### Introducción

*Psidium cattleianum* Sabine (“arazá”, “araçá-da-praia”, “araçazeiro”) es un árbol pequeño o arbusto, de corteza caduca rojiza y frutos comestibles de agradable sabor, con muy buenas condiciones para su consumo fresco y para la industrialización en dulces, jaleas y bebidas (Benevenga *et al.* 2012). Se suman a estas características, la precocidad, la buena productividad de frutos, la fácil adaptación a diferentes condiciones de cultivo y las cualidades sanitarias favorables, que han posicionado a la especie como una de las de mayor potencial para uso por parte de los productores, tanto en Uruguay como en Brasil (Raseira y Raseira 1996, Franzon 2004, Franzon *et al.* 2004, 2009, Vignale y Bisio 2005).

*P. cattleianum* se distribuye naturalmente en la zona costera desde el Estado de Espírito Santo hasta Rio Grande do Sul en Brasil y se introduce en la región serrana de Rocha, Cerro Largo y Treinta y Tres (Legrand 1968, Legrand y Klein 1977, Sobral 2003, Sobral *et al.* 2006, Brussa y Grela 2007, Govaerts *et al.* 2008). Esta especie fue descrita por Sabine en 1821 en base a material bajo cultivo en Inglaterra con frutos de coloración roja y supuestamente proveniente de China. Posteriormente Degener (1939) describió *P. cattleianum* f. *lucidum* en base a materiales de frutos amarillos, para diferenciarlos de la variedad típica de frutos rojos (Fig. 1). La distribución natural del arazá de frutos rojos y amarillos no está completamente definida. Si bien Legrand en 1968 señala que ignora si existen materiales de frutos amarillos en territorio uruguayo, Brussa y Grela (2007) describen la ocurrencia de materiales de frutos rojos y ocasionalmente de frutos amarillos y Sobral (2003) sólo menciona la presencia de plantas de frutos amarillos. Se trata de una especie que se reconoce fácilmente por sus características vegetativas y los registros de herbario suelen no contar con flores ni frutos para verificar esta característica.

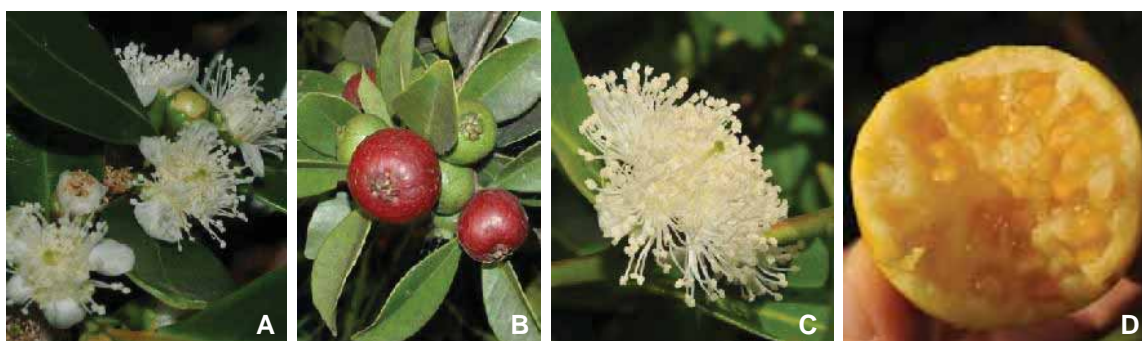


Fig. 1. Flores y frutos de *Psidium cattleianum*. A y B. Arazá rojo (*P. cattleianum* var. *cattleianum*). C y D. Arazá amarillo (*P. cattleianum* f. *lucidum*)

Dada la necesidad de incrementar la información sobre la composición de las poblaciones uruguayas de la especie y generar conocimientos locales de la biología reproductiva de los materiales de *P. cattleyanum* seleccionados e incluidos en el Programa de Selección de Frutos Nativos con potencial comercial para establecer planes de mejoramiento y propagación comercial, se desarrolló el proyecto interdisciplinario “Estudios biológicos y taxonómicos de la especie frutal nativa *Psidium cattleyanum*” (Dpto. Biología Vegetal y Estación Experimental Facultad de Agronomía Salto, Facultad de Agronomía y Estación Experimental W. Ferreira Aldunate, Las Brujas, INIA. Financiación: CSIC I+D, 2011-2014). Se obtuvo un importante aporte de conocimientos básicos sobre las características de las poblaciones naturales y la biología reproductiva de los materiales seleccionados, además de lograr la puesta a punto de diversas técnicas de laboratorio que facilitan el abordaje de futuros estudios.

### **Características de las poblaciones silvestres uruguayas**

El citado proyecto confirmó la distribución descrita para la especie en los Departamentos de Rocha, Treinta y Tres y Cerro Largo. Se determina que las poblaciones naturales están únicamente integradas por individuos de frutos amarillos (Speroni *et al.* 2012, Bernaschina y Pereyra 2014). Los materiales de frutos rojos no fueron encontrados en poblaciones naturales y por ello estimamos que esta variedad ha sido introducida para su cultivo en nuestro medio.

Las poblaciones silvestres de frutos amarillos son relativamente escasas, característica esperable dado que nuestro territorio es límite de distribución austral de la especie (Speroni *et al.* 2012). Están integradas por pocos individuos, que crecen generalmente en montes inundables, con régimen fustal y altura de 3 a 15 metros (Bernaschina y Pereyra 2014), muy diferente al hábito de los ejemplares arbustivos, con copas globosas, que crecen individualmente en cultivo. La exploración de las poblaciones naturales permite concluir que, pese a que se trata de una especie popularmente conocida por la difusión de su cultivo y el consumo de sus frutos, la ocurrencia real en nuestros montes no es frecuente ni abundante (Speroni *et al.* 2012). Sin embargo, estas poblaciones encierran una fuente de diversidad inexplorada y su conocimiento es necesario para implementar planes de fitomejoramiento. Interesa destacar que la mayoría de las publicaciones más recientes, incluidas aquellas que presentan nuevas entidades infraespecíficas, utilizan mayormente especímenes bajo cultivo para documentar la existencia de materiales con frutos rojos y no materiales silvestres (Sobral 2003, Sobral *et al.* 2006, Mattos 1981, 2007). De esta manera, el área de origen de la variedad típica de frutos rojos en la región aún no está determinada.

### **Estudios cromosómicos y niveles de ploidía**

Contamos hoy con los primeros cariotipos para la especie y su idiograma. La mejor calidad de imágenes se obtuvieron para materiales de frutos amarillos y muestran los cromosomas de un ejemplar octoploide  $2n=88$  (Fig. 2). El número cromosómico básico en la familia Myrtaceae es  $x=11$  y son mayormente diploides, pero dentro de la tribu Myrteae se han reconocido especies que presentan individuos con diferentes niveles de ploidía o citotipos (Costa & Forni-Martins 2006b). El arazá es una especie particular en la cual no hay citotipos diploides, ya que se encontraron materiales de frutos amarillos con citotipos  $2n=44, 66, 88$  y en la variedad de frutos rojos  $2n=66, 77$  y  $88$  (Singhal *et al.* 1985, Atchinson 1947, Costa 2009). En Uruguay, los resultados obtenidos en el marco de este proyecto y hasta ahora en pocas plantas (menos de 10 de frutos amarillos), indican que en las poblaciones silvestres las plantas analizadas son  $7x$  y  $6x$ . Por otro lado, cuatro de las plantas cultivadas en la EEFAS de frutos rojos son  $7x$  y las dos analizadas de frutos amarillos son  $8x$ . Con este trabajo se amplían los análisis en distinto

germoplasma, confirmando que ocurren diferentes citotipos dentro de los materiales de una misma coloración de frutos.

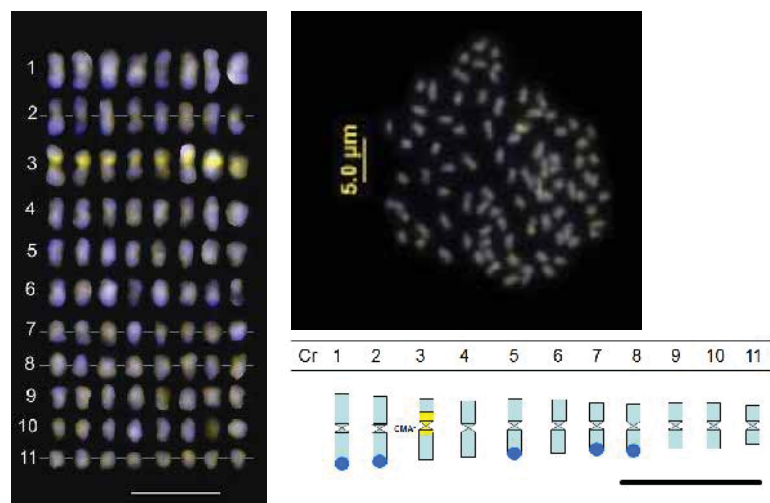


Fig. 2. Cariograma de *Psidium cattleyanum* f. *lucidum*,  $2n=8x=88$ . El idiograma muestra la única banda CMA+/DAPI- en el cromosoma 3, y las cinco señales DAPI+ y CMA- en los cromosomas 1, 2, 5, 7 y 8.

También se analizó el contenido de ADN (valor  $2C$ ), que es un parámetro de utilidad, tanto en mejoramiento de plantas como en sistemática. En *P. cattleyanum*, el contenido de ADN por genoma (valor  $Cx$ ) determinado por citometría de flujo, parece ser una característica conservada en ambas variedades. En los materiales de frutos amarillos ( $2n=88$ ) fue estimado un valor  $Cx=0,531pg$  y en la de frutos rojos ( $2n=77$ ) de  $Cx=0,546 pg$  (Vázquez 2014, Vázquez *et al.* 2014a, 2014b). Este valor es similar al descrito por otros autores para otros citotipos de la especie. La determinación del contenido de ADN resulta un parámetro útil que permitirá estimar indirectamente el nivel de ploidía de los individuos en futuros estudios (Vázquez 2014, Vázquez *et al.* 2014a, 2014b). La condición poliploide además, plantea interrogantes acerca del comportamiento meiótico de las células madres de micrósporas y la formación de los granos de polen en esta especie. Hirano y Nakasone (1969) reportan un menor porcentaje de germinación de los granos de polen en citotipos de *Psidium* poliploides respecto a los diploides. Esta característica puede asociarse con los bajos valores de viabilidad de polen encontrados en este trabajo en los materiales de frutos rojos ( $2n=7x$ ), como se detalla a continuación.

### Morfología y biología floral

Las flores de los materiales de frutos rojos y amarillos poseen los mismos tiempos de vida (dos días), comparten las mismas etapas de desarrollo y los procesos ontogenéticos que en ellas ocurren son muy similares en ambas (Souza-Pérez y Speroni 2014a, b, c). Sin embargo, existen marcadas diferencias en los tamaños florales, siendo las flores de la forma amarilla significativamente de mayor tamaño (Fig. 3). La consistencia de sus piezas florales también es mayor (Speroni *et al.* 2012, 2014), todo lo cual genera una natural barrera reproductiva que impide la llegada de los visitantes florales. Se agrega además un marcado desfase entre los períodos de floración de ambas formas, iniciándose primero en la de frutos rojos (Speroni *et al.* 2014).

Se constataron además grandes diferencias en los niveles de viabilidad de polen entre individuos. Los estudios de viabilidad llevados adelante en los materiales cultivados en la

EEFAS y en INIA Las Brujas, mostraron que todos los materiales de frutos amarillos (2n=88) tienen polen viable, mientras que entre los cinco materiales de frutos rojos analizados (2n=77), solamente uno presentó polen viable (Speroni *et al.* 2012, 2014). Estudios de ontogenia del polen de estos materiales evidenció problemas en el desarrollo de los granos, como fallas en la meiosis de las células madres de micrósporas, tétradas irregulares y granos de polen deformes (Souza-Pérez y Speroni 2014a, c). Estas anomalías podrían ser causadas por desbalances cromosómicos que, en materiales poliploides con números cromosómicos impares, provocan fallas en la meiosis y determinan esterilidad y baja viabilidad de polen.

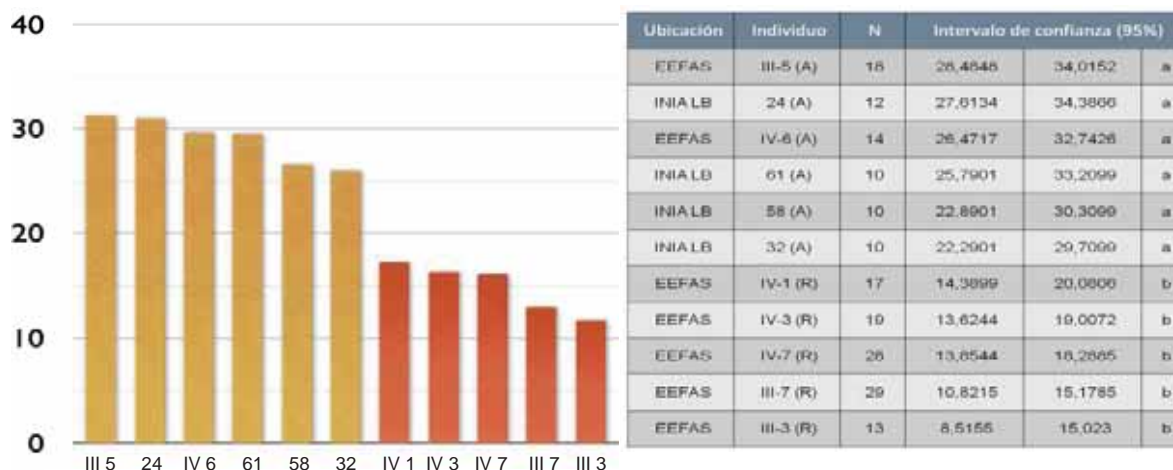


Fig. 3. Diámetro de las flores de *Psidium cattleianum*. A la izquierda, promedios de diámetros florales (mm) en seis plantas de arazá amarillo y cinco de arazá rojo. A la derecha, Intervalos de confianza para diámetro de flores en anthesis (N: número de flores) y significancia de comparaciones entre ellos con corrección de Bonferroni (Programa estadístico SAS) para los materiales cultivados en EEFA e INIA LB.

### Sistema reproductivo

Los tratamientos de polinizaciones dirigidas llevados adelante en los materiales seleccionados de la EEFAS e INIA Las Brujas muestran que los materiales analizados de ambas formas necesitan de vector de polinización tanto en las polinizaciones autógamas como alógamas y la fructificación ocurre cuando llega polen viable al estigma, sin importar que el origen sea de la misma planta (autógamo), de otra planta de la misma variedad (xenógamo) o de la otra forma taxonómica. Se observó que la fructificación se incrementó (en número y tamaño de frutos) en polinizaciones cruzadas y, aún más, en las polinizaciones con polen de la otra forma. Si bien estas variables tienen un valor positivo en la producción de un frutal, también se registró incremento en la formación de semillas, característica no deseada por el consumidor final. Los tratamientos realizados para verificar apomixis (formación de semillas con embriones de origen asexual) no tuvieron fructificación, por lo que se descarta la apomixis autónoma (sin necesidad de polinización), pero no se puede descartar la pseudogamia (apomixis con necesidad de polinización). En los estudios de ontogenia del saco embrionario se encontraron sacos embrionarios tipo *Polygonum* desarrollados en el momento de anthesis de la flor, sin encontrar claramente las etapas previas de división de los núcleos de la megáspora para su formación, lo que sugiere un origen diplospórico del mismo (Souza-Pérez y Speroni 2014b, c). En el Proyecto se desarrollaron 166 nuevos marcadores moleculares para la especie incluyendo 36 SSR, 46 ISSR y 84 RAPDs (Scaltritti *et al.* 2014a, 2014b), con el objetivo de medir la variabilidad genética de los padres y el grado de segregación de la descendencia obtenida en las polinizaciones manuales. Consistentemente, los diferentes tipos de marcadores utilizados revelaron ausencia de diversidad genética dentro del grupo de padres de fruto rojo y dentro



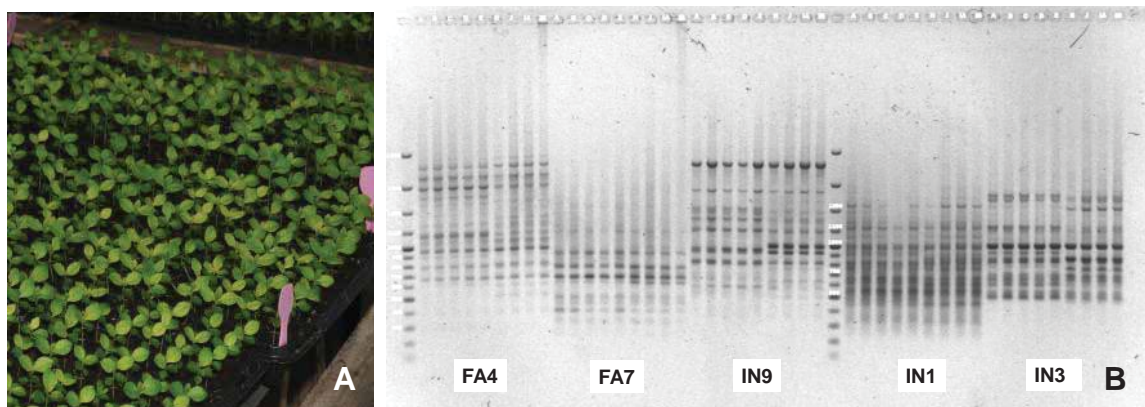


Fig. 4. *Psidium cattleianum*. A. Progenie obtenida por tratamientos de polinizaciones manuales. B. Perfiles de migración de amplicones ISSR derivados de los cebadores FA4, FA7, IN9, IN1 e IN3 en nueve plantas madre migrando en gel de agarosa (2%). Para cada cebador, los carriles corresponden de izquierda a derecha al grupo de frutos rojos (III3, III7, IV1, IV3 y IV7) y el grupo de frutos amarillos (III5, IV6, 24 y 61)

de los padres de fruto amarillo (Fig. 4). Sin embargo, ambos tipos de plantas mostraron perfiles de marcadores diferentes lo cual facilita el análisis de progenies resultantes de cruzamientos entre plantas de frutos rojos y amarillos. Se cuenta con 974 plantas producto de diferentes esquemas de cruzamientos (Fig. 4), que están siendo analizadas para obtener datos que permitan esclarecer si hay o no origen sexual en las progenies.

### Perspectivas

El grupo de trabajo en arazá realizó la puesta a punto de diversas técnicas para el estudio de esta especie y desarrolló un amplio espectro de conocimientos originales para la misma, que deja en evidencia lo poco explorado que están nuestros recursos fitogenéticos, aún en especies tan popularmente conocidas y ampliamente tratadas en los compendios florísticos. El Programa de Selección de Frutos Nativos con potencial comercial reconoce la necesidad de incorporar variabilidad genética al mismo. Recientemente se obtuvo financiación (CISIC I+D 2014-2017) para poder continuar profundizando en la distribución, diversidad genética, biología reproductiva y arquitectura genómica de materiales silvestres y cultivados. Este proyecto plantea continuar con la búsqueda de nuevas poblaciones silvestres e incorporar materiales cultivados. Se plantea además, profundizar en el conocimiento de la biología reproductiva de la especie para determinar el origen del saco embrionario y el rol de la polinización en la formación de frutos y semillas, así como establecer si la variación en los valores de viabilidad del polen está asociada a las formas descritas para la especie y/o niveles de poliploidía. Todos estos conocimientos contribuirán además para confirmar el estatus taxonómico de las dos entidades infraespecíficas de frutos rojos y amarillos.

### Bibliografía

- Atchison E. 1947. Chromosome numbers in the Myrtaceae. *American Journal of Botany*, 34 (3): 159-164  
 Benevenga SM, Silveira Da Silva AC, Da Silva C. 2012. Recursos genéticos de frutas nativas da familia Myrtaceae no Sul do Brasil. *Magistra* 24 (4): 250-262.

**Bernaschina Y., Pereyra G.** 2014. Caracterización de frutos y biología de semillas de poblaciones silvestres de *Psidium cattleyanum* Sabine, "arazá" (Myrtaceae). [Tesis Ingeniero Agrónomo]. Facultad Agronomía. Universidad de la República.

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

**Costa IR.** 2009. Estudos evolutivos em Myrtaceae: aspectos citotaxonómicos e filogenéticos em Myrtaceae, enfatizando *Psidium* e generos relacionados [Tesis de Doutor em Biologia Vegetal] Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

**Costa IR, Forni-Martins ER.** 2006. Chromosome studies in Brazilian species of *Campomanesia* Ruiz et Pavon and *Psidium* L. (Myrtaceae Juss.) Caryologia 59: 7-13.

**Franzon RC.** 2004. Fructíferas Nativas do Sul do Brasil. En: II Simposio Nacional do Morango e 1º Encontro de pequenas frutas y frutas nativas do Mercosul; 6-9 julio; Pelotas; Brasil.

**Franzon RC, Rodriguez-Correa E, Raseira MDC.** 2004. Potencialidades de producto de Mirtaceas Frutíferas Nativas do Sul do Brasil. En: II Simposio Nacional de Morango e 1º Encontro de pequenas frutas y frutas nativas do Mercosul; 6-9 de julio; Pelotas; Brasil.

**Franzon RC, De Oliveira LZ, Proenca CEB, Sousa-Silva JC.** 2009. Araçás do gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrência, descrição e usos. Documentos 266, Embrapa Cerrados, Planaltina DF.

**Govaerts R, Sobral M, Ashton P, Barrie F, Holst BK, Landrum L, Matsumoto K, Mazine FF, Lughadha EN, Proenca CEB, Silva LHS, Wilson P, Lucas E.** 2008. World Checklist of selected plant families- Myrtaceae. Disponible en: <http://apps.kew.org/wcsp/>

**Hirano RT, Nakasone HY.** 1969. Pollen germination and compatibility studies of some *Psidium* species. Journal American Society Horticultural Science 94 (3): 287-280.

**Legrand D.** 1968. Las Mirtáceas del Uruguay, III. Boletín Facultad Agronomía, Nº 101. 80 p

**Legrand D, Klein RM.** 1977. Mirtáceas. En: Reitz PR, [Ed.]. Flora Ilustrada Catarinense. I parte. Fasc.: Mirt.

**Mattos J.** 1981. Novidades taxonómicas em plantas do Brasil. Loefgrenia 76: 1-2

**Mattos J.** 2007. Novidades taxonomicas em Myrtaceae XXII. Loefgrenia 124: 1-4

**Raseira MDC, Raseira A.** 1996. Contribuição ao estudo do araçazeiro, *Psidium cattleyanum*. EMBRAPA-CPACT

**Scaltritti J, Raffo M, Bernal J, Speroni G, Pritsch C.** 2014a. Diversidad genética en *Psidium cattleyanum*: desarrollo de marcadores ISSR. En: VI Encontro sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul; 8-10 de abril; Pelotas, Brasil.

**Scaltritti J, Raffo M, Bernal J, Cazzulo Y, Quezada M, Speroni G, Pritsch C.** 2014b. Diversidad genética en *Psidium cattleyanum*: desarrollo de marcadores ISSR. En: III Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Genética; 7-8 de mayo; Montevideo.

**Singhal VK, Gill BS, Bir SS.** 1985. Cytology of woody species. Proceedings: Plant Sciences 94 (4-6): 607-618.

**Sobral M.** 2003. A familia Myrtaceae no Rio Grande do Sul. Sao Leopoldo, Unisinos, Brazil.

**Sobral M, Jarenkow JA, Brack P, Irgang B, Larocca J, Rodrigues R.** 2006. Flora arbórea e arborescente do Rio Grande do Sul. RiMa

**Souza-Pérez M, Speroni G.** 2014a. Ontogenia del androceo de arazá (*Psidium cattleianum*, Myrtaceae): aportes al conocimiento taxonómico y biológico de la especie. En: VI Encontro sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul; 8-10 de abril; Pelotas; Brasil.

**Souza-Pérez M, Speroni G.** 2014b. Ontogenia de óvulos en arazá. En: I Reunión Argentina de Jóvenes Botánicos; 15-18 de agosto; Corrientes; Argentina.

**Souza-Pérez M, Speroni G.** 2014c. Caracterización embriológica de la especie frutal nativa *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae). En: XI Congreso Latinoamericano de Botánica; 19-24 de octubre; Salvador de Bahía; Brasil.

**Speroni G, Mazzella C, Vignale B, Pritsch C, Cabrera D, Bonifacino M, Quezada M, Silva MP, Jolochin G, Tardáguila A, Gaiero P, Millán C, Trujillo C.** 2012. Estudios biológicos y taxonómicos de la especie frutal nativa *Psidium cattleianum* (Myrtaceae). 6º Encuentro Nacional sobre Frutos Nativos. Canelones, Uruguay. Serie Actividades de Difusión 679. INIA - FAGRO – MGAP.

**Speroni G, Millán C, Trujillo C, Vignale B, Cabrera D.** 2014. Fenología de la floración e intrafloral de materiales seleccionados de arazá (*Psidium cattleianum* Sabine) en Uruguay. En: VI Encontro sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul; 8-10 de abril; Pelotas; Brasil.

**Vázquez S.** 2014. *Psidium cattleianum* Sabine y *Acca sellowiana* (Berg.) Burret (Myrtaceae): caracterización cromosómica y cariotípica en poblaciones silvestres y genotipos seleccionados en programas nacionales de mejoramiento [Tesina Licenciatura en Ciencias Biológicas] Facultad de Ciencias. Universidad de la República.

**Vázquez S, Vaio M, Gaiero P, Mazzella C.** 2014. Caracterización cariotípica en poblaciones silvestres y genotipos seleccionados en programas nacionales de mejoramiento de arazá y guayabo del país. En: III Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Genética (SUG); 7-8 de mayo; Montevideo; Uruguay.

**Vignale B, Bisio L.** 2005. Selección de frutales nativos en Uruguay. Agrociencia 9 (1-2): 35-39.

**AGRADECIMIENTO:** *Se agradece a la Comisión Sectorial de Investigación Científica de la Universidad de la República por el apoyo financiero recibido y a los productores que amablemente permitieron el acceso a sus campos, especialmente a los Sres. Numa Faliveni y Weiman Rodríguez por su generosa colaboración.*