



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA URUGUAY

FACULTAD DE CIENCIAS

Trabajo de Grado para la obtención del Título de

LICENCIATURA en CIENCIAS BIOLÓGICAS

**FENOLOGÍA INTRAFLOREAL EN MATERIALES
SELECCIONADOS DE LA ESPECIE NATIVA
PSIDIUM CATTLEYANUM SABINE, “ARAZÁ”
(MYRTACEAE)**

CARINA MILLÁN AGORIO

Orientadora:

DRA. GABRIELA SPERONI

Montevideo – Uruguay

2015

AGRADECIMIENTOS

A Abel Millán, por su conocimiento y amor hacia nuestra naturaleza, experiencia de toda una vida en el interior profundo compartida en tantas charlas...

A Marina Olivera, por su espíritu y corazón puestos en cada rezo...

A Enrique Bostelmann, por tanto, tanto, tanto...

A los afectos más cercanos y a incontables seres que en el andar, a lo largo del tiempo y bajo distintas formas, han estado presentes y acompañado en tantos cierres que se unen a nuevos comienzos...

A todos,

¡Infinitas gracias!



Carina Millán Agorio

Montevideo, febrero de 2015.

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN.....	3
2.- OBJETIVOS.....	7
2.1.- Objetivo general.....	7
2.2.- Objetivos específicos.....	7
3.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
3.1.- Material de estudio.....	8
3.2.- Caracterización de estadios florales.....	9
3.3.- Desarrollo y morfología floral.....	11
3.4.- Receptividad estigmática.....	12
3.5.- Viabilidad de polen.....	13
4.- RESULTADOS.....	14
4.1.- Desarrollo y morfología floral.....	14
4.1.1.- Estadios florales.....	14
4.1.2.- Morfología de la flor.....	16
4.1.3.- Dehiscencia de anteras.....	18
4.2.- Receptividad estigmática.....	18
4.3.- Viabilidad de polen.....	19
5.- DISCUSIÓN.....	22
6.- CONCLUSIONES.....	29
7.- BIBLIOGRAFÍA.....	31
ANEXO.....	36

1.- INTRODUCCIÓN

La familia Myrtaceae está conformada por al menos 133 géneros y más de 3800 especies (Wilson *et al.*, 2001) de distribución predominantemente tropical y subtropical, principalmente en América y Australia (Heywood, 1979). Dentro de la flora leñosa de nuestro país, constituye la segunda familia con cerca de 30 especies (Jolochin, 2010).

Psidium cattleianum Sabine, conocida popularmente como “arazá”, es originaria de Uruguay y el Sudeste de Brasil. En nuestro territorio presenta una distribución restringida a la zona Este, abarcando los departamentos de Treinta y Tres, Rocha y Cerro Largo (Legrand, 1968; Brussa y Grela, 2007).

Es una especie de hábito arbustivo o árbol pequeño, generalmente de 1,5 a 3 m de altura, de corteza lisa, color canela, follaje denso y brillante, hojas simples, opuestas, y frutos rojos o amarillos de 2 a 3 cm de diámetro (Legrand y Klein, 1977; Brussa y Grela, 2007). Las diferencias observadas en la coloración de los frutos, junto a algunos caracteres vegetativos, fundamentaron la descripción de varias entidades taxonómicas infraespecíficas. Degener (1939) describió *Psidium cattleianum* f. *lucidum* para referirse a materiales de frutos amarillos, distinguiéndola de la variedad típica de frutos rojos *Psidium cattleianum* var. *cattleianum* definida por Sabine (1821).

A nivel nacional, los registros de herbario son escasos, correspondiendo muchos de ellos a materiales cultivados y sin información en las etiquetas referida a la coloración de los frutos (Speroni *et al.*, 2012). A pesar de ser una especie poco conocida y difundida en nuestro país (Rosano *et al.*, 2012), puede encontrársela cultivada en parques y jardines urbanos y rurales (Vignale, 2010a). Su conocimiento, al igual que ocurre con otras especies nativas, está arraigado en la cultura de una parte de la población que tradicionalmente ha empleado sus frutos en la elaboración casera de dulces y licores (Legrand, 1936; Martínez *et al.*, 2010; Carrere, 2010).

En los últimos años, la preocupación por la creciente pérdida de diversidad biológica y el interés en desarrollar nuevas alternativas económicas sostenibles han impulsado el estudio de la flora nativa de la región a través de distintos

abordajes (Brack *et al.*, 2007; Carrere, 2010; Coradin *et al.*, 2011). El valor frutal de muchas de estas especies, gran parte de ellas pertenecientes a la familia Myrtaceae, han sido objeto de investigación por varias instituciones regionales. Así, la Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), inició en 1985 el Banco Activo de Germoplasma de frutas nativas del sur de Brasil con el objetivo principal de conservar y estudiar su potencial con miras a generar nuevas opciones agroalimentarias (Raseira *et al.*, 2004; Franzon, 2012). Desde el año 2000 viene desarrollándose en nuestro país el Programa de Selección de Frutas Nativas iniciado por la Facultad de Agronomía, el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) Las Brujas- Canelones y el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, al que se han ido sumando otras instituciones y la colaboración de productores y otros actores sociales (Vignale *et al.*, 2012). Este programa incluye el estudio de diversos aspectos referidos a la prospección, caracterización y manejo de plantas nativas de interés frutal en el Uruguay, con la finalidad de obtener cultivos a escala comercial (Vignale *et al.*, 2012). *Psidium cattleianum* es una de las especies que presenta mayor potencial para su aprovechamiento económico por las destacadas cualidades organolépticas e industriales de sus frutos (Franzon *et al.*, 2009; Lisbôa *et al.*, 2011; Rosano *et al.*, 2012; Croce, 2012). Desde el punto de vista productivo su cultivo supone ciertas ventajas vinculadas a la precocidad de la especie en la producción de frutos, al alto potencial de adaptación a las condiciones ambientales de nuestro país y a la ausencia, en general, de problemas fitosanitarios (Raseira y Raseira, 1995; Cabrera *et al.*, 2008; Franzon *et al.*, 2009; Vignale, 2010b).

El conocimiento de la biología reproductiva de la especie resulta fundamental para el manejo en cultivo, la elección de la forma de propagación a nivel comercial, la planificación de cruzamientos en programas de mejoramiento genético, así como para la aplicación de estrategias de conservación en poblaciones naturales (Caraballo, 2001; Page *et al.*, 2006; Gomes da Silva y Pinheiro, 2007; Speroni *et al.*, 2009; Danner *et al.*, 2010). En este sentido el estudio de la fenología intrafloral es una aproximación preliminar a la comprensión del sistema reproductivo de la especie ya que permite establecer qué mecanismos reproductivos se ven facilitados o impedidos y brinda datos

básicos para la planificación del trabajo experimental y una correcta interpretación de los resultados (Stone *et al.*, 1995; Speroni *et al.*, 2009). Este enfoque comprende el análisis de los eventos biológicos que ocurren a lo largo del desarrollo de la flor de manera sistemática, tanto durante la fase en que la flor permanece abierta (periodo de antesis) como en las etapas previas a su apertura (pre-antesis) (Speroni *et al.* 2009). De esta manera se abordan los cambios morfológicos y funcionales tales como el momento de apertura de la flor (antesis) y su longevidad, la relación morfológica entre los diferentes verticilos florales, el momento de dehiscencia de las anteras, el período de receptividad estigmática y la viabilidad de polen, entre otros, para determinar si existen características florales que favorezcan la alogamia o la autogamia. La morfología y fenología floral mantienen a su vez, estrecha relación con la actividad de los visitantes florales y su capacidad para realizar una polinización efectiva (Speroni *et al.*, 2009).

Psidium cattleianum presenta flores hermafroditas, blanquecinas, suavemente perfumadas, con numerosos estambres y ovario ínfero (Franzon *et al.*, 2009). Las flores nacen en las ramas del año, son solitarias y de disposición axilar (Legrand y Klein, 1977; Raseira *et al.*, 2004). Aunque el estudio comparativo de algunas especies del género *Psidium* señala una biología floral de características similares, se observaron leves diferencias en *Psidium cattleianum* f. *lucidum* al presentar maduración más rápida de yemas florales y frutos, dehiscencia de anteras posterior a la antesis, la más baja viabilidad y longevidad de polen y período de receptividad estigmática más prolongado que en las otras especies evaluadas (Seth, 1963).

El presente trabajo se enmarca dentro del proyecto “Estudios biológicos y taxonómicos en la especie frutal nativa *Psidium cattleianum* (MYRTACEAE)”, que tiene como objetivos principales caracterizar el sistema reproductivo de la especie a través de enfoques morfo-funcionales, citogenéticos y moleculares y confirmar las categorías infraespecíficas descritas para la especie y su distribución natural en el país. En este trabajo se plantean los estudios de fenología y biología floral de materiales seleccionados en cultivo, necesarios para analizar e interpretar el sistema reproductivo de estos materiales e implementar planes de manejo y mejoramiento. Los datos biológicos obtenidos

contribuirán además como fuente de caracteres taxonómicos para la confirmación de las entidades infraespecíficas descritas.

2.- OBJETIVOS

2.1.- Objetivo general

Analizar la fenología intrafloral de materiales seleccionados de la especie nativa *Psidium cattleianum*, “arazá” (Myrtaceae) para contribuir al conocimiento de su biología reproductiva y determinar si existen diferencias morfofuncionales entre los materiales de frutos rojos y amarillos.

2.2.- Objetivos específicos

2.2.1.- Caracterizar el desarrollo morfológico de las flores de *Psidium cattleianum* en materiales seleccionados de frutos rojos y amarillos y establecer si existen diferencias entre ambos.

2.2.2.- Determinar el tiempo de vida de la flor para ambos materiales.

2.2.3.- Relacionar el período de antesis con eventos biológicos importantes de la flor como el momento de dehiscencia de las anteras, el período de receptividad estigmática y la viabilidad de polen.

3.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- Material de estudio

Para el estudio de la fenología intrafloral se analizaron en total once individuos seleccionados en el Programa de Selección de Frutos Nativos, siete de ellos cultivados en la Estación Experimental de Facultad de Agronomía Salto (EEFAS) y cuatro en el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) Las Brujas – Canelones (Tabla 1). Se consideraron cinco ejemplares de frutos rojos y seis de frutos amarillos escogidos en base a buenas características productivas como cantidad y buen sabor de los frutos.

Tabla 1. Materiales de *Psidium cattleianum* seleccionados e incluidos en el estudio pertenecientes a la Estación Experimental de Facultad de Agronomía Salto (EEFAS) y al Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) Las Brujas – Canelones. Se indica el código de identificación de cada ejemplar, la coloración del fruto, localidad y coordenadas geográficas del cultivo.

Individuo	Fruto Rojo (R) / Amarillo (A)	Localidad	Coordenadas geográficas
IV-7	R	EEFAS	31°23'0,60''S; 57°42'50,61''O
IV-6	A	EEFAS	31°23'0,60''S; 57°42'50,61''O
IV-3	R	EEFAS	31°23'0,60''S; 57°42'50,61''O
IV-1	R	EEFAS	31°23'0,60''S; 57°42'50,61''O
III-7	R	EEFAS	31°23'0,60''S; 57°42'50,61''O
III-5	A	EEFAS	31°23'0,60''S; 57°42'50,61''O
III-3	R	EEFAS	31°23'0,60''S; 57°42'50,61''O
61	A	INIA Las Brujas	34°40'4,13''S; 56°20'28,19''O
58	A	INIA Las Brujas	34°40'4,13''S; 56°20'28,19''O
32	A	INIA Las Brujas	34°40'4,13''S; 56°20'28,19''O
24	A	INIA Las Brujas	34°40'4,13''S; 56°20'28,19''O

Los materiales evaluados fueron introducidos en el jardín experimental de EEFAS en los años 2000 y 2001, mientras que en INIA Las Brujas las plantas se instalaron entre los años 2008 y 2009. Por tratarse de cultivos de distinta antigüedad, las plantas de las Estaciones Experimentales presentan diferencias de tamaño (Fig. 1) lo que incidió en la distinta disponibilidad de flores para el trabajo experimental entre ambas Estaciones.



Figura 1. Plantas seleccionadas de *Psidium cattleianum* en cultivo. Diferencias de tamaño entre los materiales del norte y del sur. A: Estación Experimental Facultad Agronomía Salto (norte). B: Estación Experimental INIA Las Brujas (sur).

Los datos para el análisis se tomaron durante la primavera de 2011 entre los meses de octubre y diciembre. Se indica en anexo el período de floración de cada individuo de la Estación Experimental de Facultad de Agronomía Salto y los datos meteorológicos de setiembre a diciembre de 2011 para el norte y sur del país.

3.2.- Caracterización de estadios florales

Se definieron siete estadios florales (Fig. 2) en base a características morfológicas externas y relación entre verticilos florales, desde el botón floral pequeño hasta la senescencia de la flor. Esta determinación se inició a partir de la yema floral que presentaba un mes de desarrollo (E0).

Los estadios definidos se describen a continuación:

Estadio E0

Botón floral con cáliz cubriendo casi totalmente la corola, escasa superficie de la corola expuesta, corola color verde amarillento – verde blanquecino.

Estadio E1

Botón floral con mayor exposición de corola que en E0, corola color amarillo-blanquecino a blanco. En algunos casos se distingue la delimitación de pétalos aunque aún no hay separación entre ellos.

Estadio E2

Botón floral con corola blanca o amarillenta (en *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* y *P. cattleyanum* f. *lucidum* respectivamente), prominente, pétalos levemente separados entre sí.

Estadio E3

Flor en anthesis, pétalos erectos. En *P. cattleyanum* f. *lucidum* se definió para E3 un estadio intermedio entre el 3 y el 4 en el que la mitad de la flor se encuentra en E3 y la otra mitad en E4.

Estadio E4

Flor en anthesis, pétalos dispuestos horizontalmente o inclinados hacia la base de la flor.

Estadios E5 y E6 (S, senescencia)

Pérdida de turgencia y coloración ocre a amarronada en piezas florales en general. Pétalos y estambres caedizos o ausentes. Los estadios E5 y E6 corresponden a la flor 24 y 48 hs. luego del inicio de la anthesis, respectivamente.

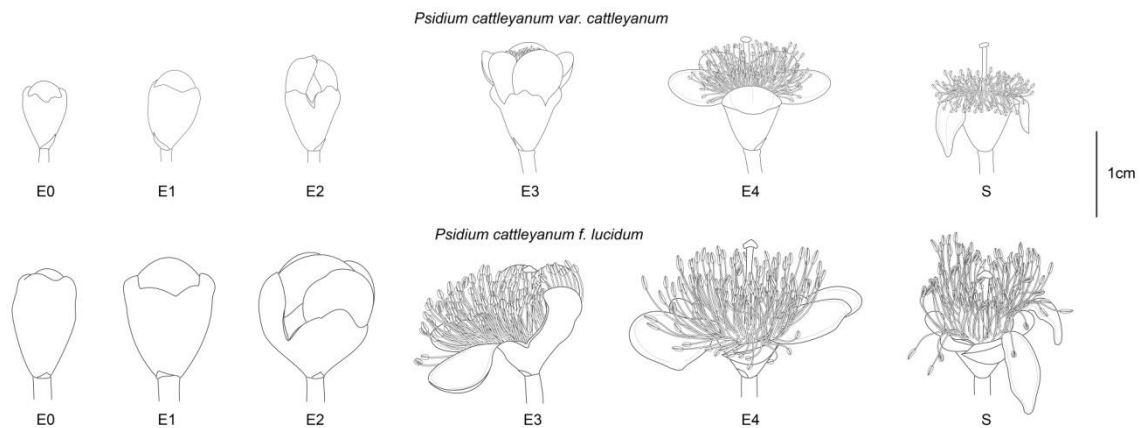


Figura 2. Estadios florales en *Psidium cattleianum* var. *cattleianum* y *Psidium cattleianum* f. *lucidum*. Se ilustran los estadios definidos desde el botón floral (E0) hasta la senescencia (S). Ilustración: Cristina Trujillo.

3.3.- Desarrollo y morfología floral

Para correlacionar los estadios morfológicos definidos con eventos funcionales de la flor se realizó un seguimiento desde botón floral pequeño (E0) hasta la senescencia. Se marcaron 20 flores en E0 por individuo en EEFAS y 10 flores en E0 por individuo en INIA Las Brujas.

Diariamente se midieron las siguientes variables (Fig. 3):

- Longitud de la flor (l): desde la base del receptáculo hasta el ápice de la corola en los estadios E0, E1 y E2.
- Diámetro (d): diámetro mayor del botón floral para E0, E1 y E2 y diámetro mayor de la corola en la flor en anthesis para E3 y E4.
- Diámetro de la corola (d_c): para los estadios E0 y E1.
- Altura de la corola (h): se midió en E2.

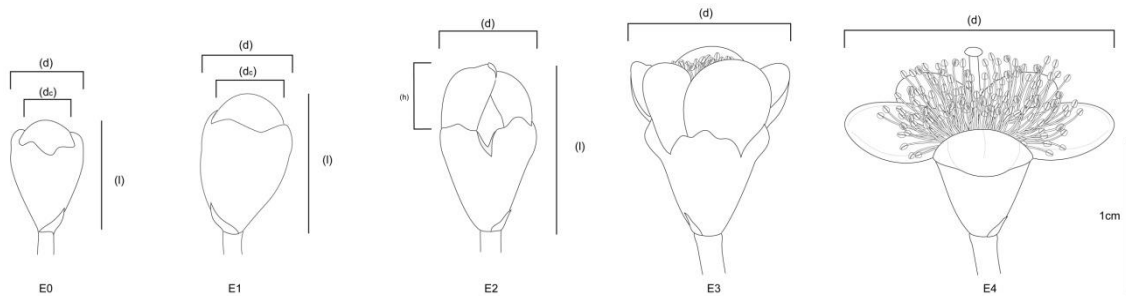


Figura 3. Medidas tomadas diariamente en cada uno de los estadios florales definidos para *Psidium cattleianum* (d: diámetro mayor, dc: diámetro de la corola, h: altura de la corola, l: longitud de la flor). Ilustración: Cristina Trujillo.

Se registró el modo de presentación de los verticilos florales en antesis, momento de dehiscencia de las anteras y momento de aparición de los primeros síntomas de senescencia.

En base a estos registros se determinó la duración de cada uno de los estadios florales definidos y el tiempo de vida de la flor (período de antesis).

A efectos de determinar si existen diferencias significativas en el tamaño de las flores entre los materiales de *P. cattleianum* var. *cattleianum* y *P. cattleianum* f. *lucidum*, se aplicó un análisis de varianza a las medidas obtenidas y se calcularon intervalos de confianza al 95% con corrección de Bonferroni mediante el paquete estadístico SAS versión 9.1.3 (SAS Institute, Cary, NC).

La hora registrada corresponde a la hora local de verano (- 2UTC).

3.4.- Receptividad estigmática

El período de receptividad estigmática se determinó mediante la técnica de coloración con acetato de alfa naftilo (Pearse, 1972) aplicada en varios estadios florales (de E2 a E6). Las flores se colectaron en la mañana, alrededor de las 11 hs., empleándose un mínimo de cinco y tres repeticiones por estadio en cada individuo en EEFAS e INIA Las Brujas, respectivamente. Los estigmas fueron removidos de las flores e incubados en la solución de acetato de alfa naftilo durante unos minutos. Cuando el estigma se encuentra receptivo, es decir, en condiciones de recibir al grano de polen y facilitar su germinación,

presenta gran actividad enzimática. Este método detecta la presencia de esterasas, enzimas que hidrolizan el reactivo tornándolo de un color azul oscuro. Se observó la región teñida del estigma indicando si éste se encontraba receptivo en toda su superficie o en parte de ella. Se corroboró que no hubiera daños en el tejido, lo que podría brindar falsos positivos de receptividad.

3.5.- Viabilidad de polen

La viabilidad de polen se determinó mediante la técnica de tinción con cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolio -(TTC)- (Shivanna y Rangaswamy, 1992). Este método se basa en la detección de actividad enzimática implicada en la respiración celular que convierte la sal de tetrazolio soluble e incolora en una sustancia insoluble de color rojo denominada formazán. Esta reducción de la sal de tetrazolio por deshidrogenasas colorea las células de rojo intenso a morado, indicando viabilidad. El recuento de granos de polen se realizó a partir de imágenes capturadas con cámara digital Nikon Coolpix P5100 en microscopio Nikon Eclipse E100.

Se analizó la viabilidad de polen en estadios de pre-antesis avanzada (E2) y antesis (E3, E4 y E5), colectando polen de un mínimo de cinco flores (repeticiones) por estadio en cada individuo de EEFAS y un mínimo de tres flores por estadio en los materiales de INIA Las Brujas. Las flores para el análisis se colectaron entre las 11:00 hs. y las 12:00 hs. y ocasionalmente a las 14:00 hs.

El análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó a través de un Modelo Lineal Generalizado y una prueba χ^2 mediante el paquete estadístico SAS versión 9.1.3 (SAS Institute, Cary, NC).

4.- RESULTADOS

4.1.- Desarrollo y morfología floral

4.1.1.- Estadios florales

La etapa de botón floral previa al estadio E0 definido en este trabajo abarcó aproximadamente un mes de duración. En muchos casos resultó difícil establecer el momento del pasaje del estadio E0 a E1 por lo que se estimó una duración global para ambos estadios de 8 a 19 días (Fig. 4).

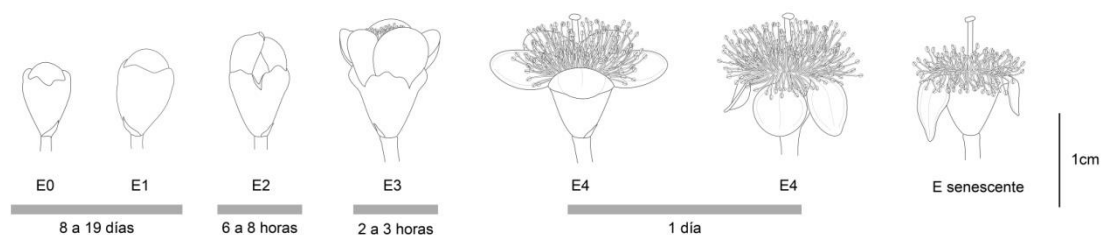


Figura 4. Duración de los estadios florales definidos para *Psidium cattleyanum*. Ilustración: Cristina Trujillo.

Se constató que los cambios en el botón floral E0 y E1 se dan desde el atardecer y durante la noche. En horas cercanas a la medianoche se observó el abultamiento de la corola del botón floral en E1 indicando la transición hacia E2.

El estadio E2 se halló en las primeras horas de la mañana, siendo las 8:00 a.m. el momento en que se observaron las últimas flores en esta fase. La anthesis comenzó paulatinamente entre las 6:30 y las 7:00 a.m. Entre 8:30 y 9:30 a.m. se registró la mayor cantidad de flores en E3. El estadio E2 presentó una duración máxima de unas 8 horas mientras que el estadio E3 perduró entre 2 y 3 horas aproximadamente (Fig. 4). En menor medida, hubo situaciones en las que la duración de estos estadios alcanzó las 48 horas. En estos casos, las flores senescieron sin pasar al siguiente estadio.

El despliegue de pétalos y estambres se dio en forma conjunta y continua hasta alcanzar el estadio E4 a media mañana (10:30 hs. aproximadamente). El tiempo de vida de la flor en E4 fue de 24 hs. (Fig. 4). Posteriormente aparecen

los primeros síntomas de senescencia marcada por la marchitez de las piezas florales en general y por la caída de pétalos y estambres.

No se detectaron diferencias en la duración de los estadios florales entre los materiales de frutos rojos y amarillos. En cambio, se registraron diferencias en el proceso de antesis dado que la apertura de la flor en *P. cattleyanum* f. *lucidum* no se dio en forma simultánea a lo largo del perímetro floral sino que abrió primero una mitad de la flor (pétalos y estambres) y luego la otra (Fig. 5).

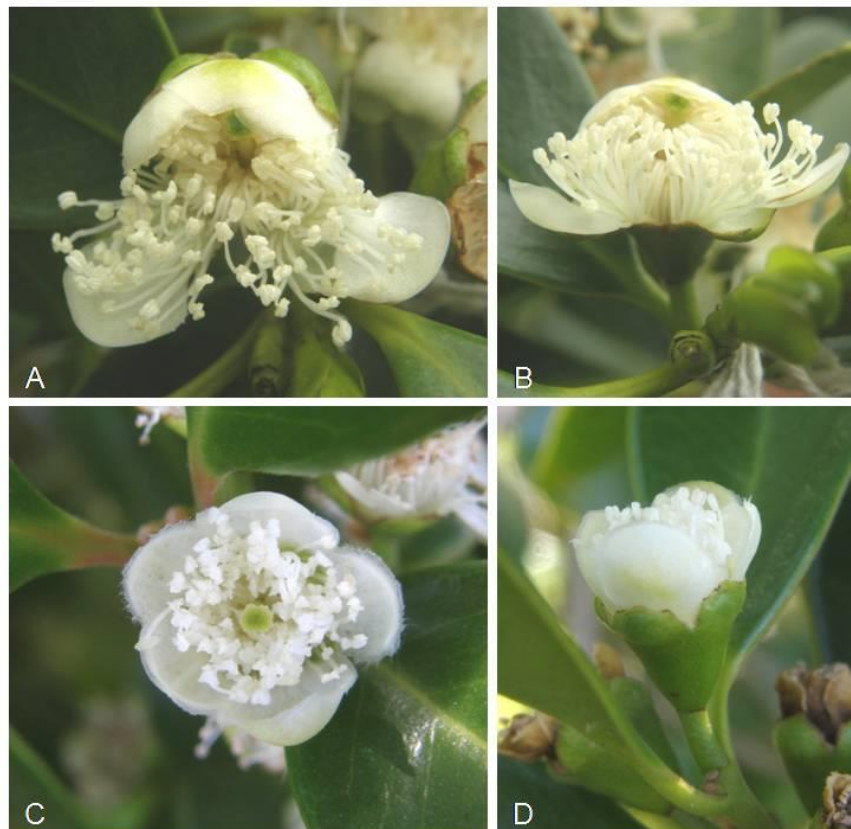


Figura 5. Antesis en *Psidium cattleyanum* (Estación Experimental Facultad Agronomía Salto). Proceso de apertura en forma diferenciada a lo largo del perímetro floral en *Psidium cattleyanum* f. *lucidum* (A: vista superior, B: vista lateral) y de manera simultánea en *Psidium cattleyanum* var. *cattleyanum* (C: vista superior, D: vista lateral).

En los materiales de INIA Las Brujas no se hallaron flores en E2 y E3 durante el trabajo de campo en el año 2011. Sin embargo, en trabajos realizados en el marco del proyecto durante 2012, se observaron estos estadios florales constatándose la misma duración que la registrada en los materiales del norte del país (EEFAS). De esta manera, se establece que no hay diferencias en la

duración de los estadios florales evaluados entre ambas Estaciones Experimentales.

4.1.2.- Morfología de la flor

Las flores de *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* y *P. cattleyanum* f. *lucidum* mostraron claras diferencias en algunos aspectos morfológicos y en el tamaño. Tanto en la flor recién abierta como en la senescencia, las piezas florales - especialmente los pétalos- son menos caedizas y más consistentes en los materiales de *P. cattleyanum* f. *lucidum*. Estas flores son de mayor tamaño a lo largo de todo su desarrollo. En los estadios pre-antesis E0 y E1, el diámetro mayor se localiza en mitad de la flor mientras que en *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* el diámetro mayor se encuentra desplazado hacia el ápice de la misma (Fig. 6).

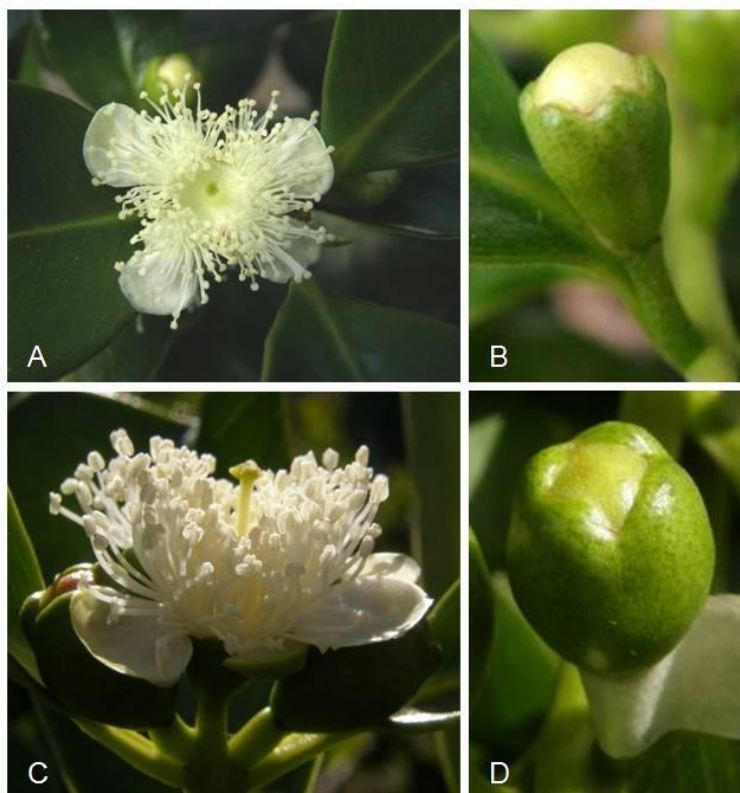


Figura 6. Morfología floral en *Psidium cattleyanum* (Estación Experimental Facultad Agronomía Salto). Diferencias a nivel de la flor y del botón floral entre *Psidium cattleyanum* var. *cattleyanum* (A y B) y *Psidium cattleyanum* f. *lucidum* (C y D).

Las variaciones diarias registradas en las medidas de los estadios pre-antesis fueron oscilantes. Esto no permitió la modelización del desarrollo floral en pre-antesis debido a que no se observó una tendencia sostenida de crecimiento de la flor durante el período de registro.

El análisis estadístico del diámetro floral en antesis (E3 y E4) mediante intervalos de confianza al 95% con corrección de Bonferroni, confirmó las diferencias observadas en el tamaño floral entre los materiales de *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* y *P. cattleyanum* f. *lucidum*. En estos últimos se registraron los valores medios más altos, conformando un grupo separado de los materiales de *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* de EEFAS (Tabla 2).

Tabla 2. Intervalos de confianza para diámetro floral en antesis (E3 y E4) para los materiales de *Psidium cattleyanum* estudiados en las Estaciones Experimentales de Facultad Agronomía Salto e INIA Las Brujas. Se indica localización y código de cada ejemplar, número de flores evaluadas (N), valor medio del diámetro floral (en mm) e intervalo de confianza al 95%; letras iguales establecen que no hay diferencias significativas entre valores medios.

Localidad	Individuo	N	Media (mm)	Intervalo de confianza (95%)		
EEFAS	III-5 (A)	18	31,25	28,4848	34,0152	a
INIA LB	24 (A)	12	31	27,6134	34,3866	a
EEFAS	IV-6 (A)	14	29,6071	26,4717	32,7426	a
INIA LB	61 (A)	10	29,5	25,7901	33,2099	a
INIA LB	58 (A)	10	26,6	22,8901	30,3099	a
INIA LB	32 (A)	10	26	22,2901	29,7099	a
EEFAS	IV-1 (R)	17	17,2353	14,3899	20,0806	b
EEFAS	IV-3 (R)	19	16,3158	13,6244	19,0072	b
EEFAS	IV-7 (R)	28	16,0714	13,8544	18,2885	b
EEFAS	III-7 (R)	29	13	10,8215	15,1785	b
EEFAS	III-3 (R)	13	11,7692	8,5155	15,023	b

Se constató que en ambos materiales los estambres de los ciclos más externos presentaron una longitud similar a la del estilo, quedando las anteras a la misma altura que el estigma o apenas por encima de éste. En cambio, las series internas de estambres presentaron filamentos más cortos.

4.1.3.- Dehiscencia de anteras

La dehiscencia de las anteras es longitudinal y ocurre unas horas después del inicio de la antesis, tanto en materiales de *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* como de *P. cattleyanum* f. *lucidum*. A medida que aumenta la temperatura ambiente, las anteras comienzan a deshidratarse. Desde las 9:30-10:00 hs. de la mañana se observaron anteras abiertas y las 11:00 hs. fue el momento de mayor exposición de polen.

4.2.- Receptividad estigmática

Las flores examinadas presentaron estigmas peltados o capitados, siendo más pronunciada y frecuente esta última característica en *P. cattleyanum* f. *lucidum*. En los estigmas frescos (flores de reciente antesis) se observó una coloración verdosa, generalmente más oscura en la zona central, que va tornándose amarillenta a medida que la flor avanza en su madurez.

Todas las pruebas de receptividad estigmática de los estadios muestreados en *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* y *P. cattleyanum* f. *lucidum* dieron resultados positivos. La tinción completa del estigma de las flores analizadas indica que toda su superficie se encuentra receptiva (Fig. 7).

Algunos resultados correspondientes a muestras del estadio 6 (senescencia) plantearon dudas sobre su confiabilidad debido a que se detectó pérdida de integridad del tejido estigmático lo cual podría estar evidenciando falsos positivos (Fig. 7). Se trata de un estadio de senescencia avanzada en el que existe un deterioro natural del tejido por lo que el estigma puede verse más propenso a daños por factores ambientales y por acción de visitantes florales.



Figura 7. Estigmas de *Psidium cattleianum*. Detección de receptividad (tinción con acetato de alfa naftilo) y pérdida de integridad del tejido estigmático. A: estigma sin teñir (individuo III-5, estadio E4), B: estigmas teñidos (individuo IV-1, estadio E5), C y D: estigmas dañados; sin teñir y luego de la reacción colorimétrica, respectivamente (individuo IV-3, estadio E6).

4.3.- Viabilidad de polen

Todos los ejemplares de *P. cattleianum* f. *lucidum*, tanto de EEFAS como de INIA Las Brujas, presentaron polen viable (Fig. 8). En cambio la viabilidad de polen fue nula en cuatro de las cinco plantas de *P. cattleianum* var. *cattleianum* examinadas en la EEFAS. El individuo IV-1 fue el único representante de estos materiales en el que se halló polen viable.

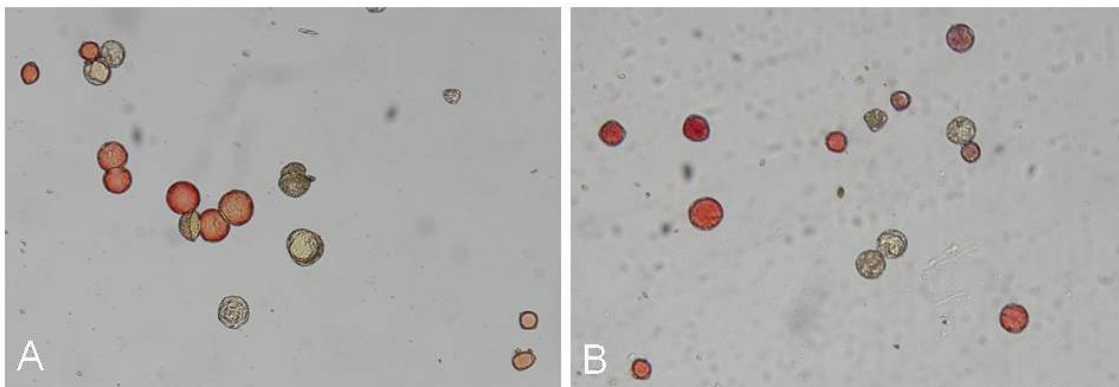


Figura 8. Viabilidad de polen en *Psidium cattleianum*. Los granos teñidos de rojo con cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolio indican viabilidad. A: *Psidium cattleianum* f. *lucidum* (individuo IV-6, estadio E4); B: *Psidium cattleianum* var. *cattleianum* (individuo IV-1, estadio E4).

El análisis estadístico indica que, en general, no hay diferencias significativas entre los valores medios de viabilidad de polen de los estadios evaluados (E2, E3, E4 y E5) dentro de cada individuo. Los individuos III-5 y 32, constituyeron

las únicas excepciones en las que el estadio E4 se diferenci6 de los restantes, alcanzando valores mayores de la proporci6n media de polen viable (Tabla 3).

Tabla 3. Viabilidad de polen en materiales de *Psidium cattleianum* cultivados en las Estaciones Experimentales de Facultad Agronomía Salto e INIA Las Brujas. Comparaci6n de valores medios de la proporci6n de polen viable entre estadios florales por individuo mediante intervalos de confianza al 95%.

Localidad	Individuo	Estadio	Media	Intervalo de confianza (95%)	
INIA LB	24 (A)	E4	0,2496	0,07912	0,56293
INIA LB	24 (A)	E5	0,0582	0,01023	0,26981
INIA LB	32 (A)	E4	0,4426*	0,37182	0,51577
INIA LB	32 (A)	E5	0,0204	0,00823	0,04983
INIA LB	58 (A)	E4	0,4378	0,26114	0,63178
INIA LB	58 (A)	E5	0,2215	0,10552	0,4069
INIA LB	61 (A)	E4	0,4741	0,26418	0,69352
INIA LB	61 (A)	E5	0,2673	0,11195	0,51357
EEFAS	III-5 (A)	E3	0,0436	0,0168	0,10838
EEFAS	III-5 (A)	E4	0,199*	0,12521	0,30128
EEFAS	III-5 (A)	E5	0,0488	0,02283	0,1014
EEFAS	IV-1 (R)	E2	0,1419	0,05813	0,30706
EEFAS	IV-1 (R)	E3	0,1053	0,05	0,20821
EEFAS	IV-1 (R)	E4	0,1453	0,09798	0,21016
EEFAS	IV-1 (R)	E5	0,1979	0,1121	0,32543
EEFAS	IV-6 (A)	E2	0,1802	0,0834	0,34671
EEFAS	IV-6 (A)	E4	0,2198	0,11747	0,37363
EEFAS	IV-6 (A)	E5	0,0756	0,02305	0,22088

*Valores que presentan diferencias significativas respecto a los restantes.

Los valores medios m6s altos de viabilidad de polen en flores en antesis (E4) se registraron en los materiales de *P. cattleianum* f. *lucidum* de INIA Las Brujas (61, 32 y 58). Los materiales pertenecientes a EEFAS (IV-6, III-5 y IV-1) obtuvieron los valores medios m6s bajos. El individuo 24 cultivado en INIA Las Brujas alcanz6 un valor intermedio en la proporci6n de polen viable quedando asociado a ambos grupos (Tabla 4).

Tabla 4. Viabilidad de polen en materiales de *Psidium cattleianum* cultivados en las Estaciones Experimentales de Facultad Agronomía Salto e INIA Las Brujas. Comparación estadística entre individuos de los valores medios de la proporción de polen viable en flores en antesis (E4) mediante intervalos de confianza al 95%. Letras iguales establecen que no hay diferencias significativas entre valores medios.

Localidad	Individuo	Estadio	Media	Error estándar	
INIA LB	61 (A)	E4	0,4741	0,3926	a
INIA LB	32 (A)	E4	0,4426	0,3018	a
INIA LB	58 (A)	E4	0,4378	0,3847	a
INIA LB	24 (A)	E4	0,2496	0,3888	ab
EEFAS	IV-6 (A)	E4	0,2198	0,3248	b
EEFAS	III-5 (A)	E4	0,199	0,4134	b
EEFAS	IV-1 (R)	E4	0,1453	0,2462	b

5.- DISCUSIÓN

El período de desarrollo floral, desde que la yema se torna visible hasta la apertura de la flor fue de aproximadamente dos meses, tanto en *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* como en *P. cattleyanum* f. *lucidum*. Al igual que lo señalado por Raseira y Raseira (1995), se observó un rápido pasaje por los últimos estadios florales, principalmente de E2 en adelante. Caraballo (2001) estimó en *Psidium guajava* L. (“guayabo”) una duración promedio de 27 días para el desarrollo completo de la yema floral desde que ésta se vuelve identificable hasta el día anterior a la antesis. Esto representa la mitad del tiempo requerido por *P. cattleyanum* aunque, según el autor, este período varía de acuerdo a la variedad y la localidad de las plantas evaluadas.

El inicio de la antesis ocurre al amanecer tanto en *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* como en *P. cattleyanum* f. *lucidum*; el proceso completo de apertura requiere algunas horas. Esto concuerda con lo observado en otras Mirtáceas en que se determinó que la apertura floral comienza en horas tempranas de la mañana (Proença y Gibbs, 1994; Caraballo, 2001; Maués y Couturier, 2002; Damián *et al.*, 2004; Gomes da Silva y Pinheiro, 2007). Al igual que ocurre en *P. guajava* (Caraballo, 2001), en *P. cattleyanum* no se registró antesis luego de las 8:30 hs.

Proença y Gibbs (1994) reconocieron dos patrones diferentes de antesis en las especies de Mirtáceas evaluadas entre las que se incluye *Psidium firmum* O. Berg. El patrón “tipo *Psidium*” presenta el estilo curvado en la punta o totalmente erecto y los filamentos estaminales irregularmente plegados cuando los pétalos comienzan a abrirse; las anteras, en varios estados de dehiscencia, se tornan visibles al tiempo que el estilo y los filamentos se expanden y la flor toma su aspecto abierto. Si bien en *P. cattleyanum* se constataron características similares al inicio de la antesis, existe una importante diferencia vinculada a la dehiscencia de las anteras. De acuerdo a las observaciones realizadas en el presente trabajo, la dehiscencia ocurre posteriormente a la apertura de la flor, lo cual confirma lo reportado por Seth (1963) para *P. cattleyanum* f. *lucidum*. A pesar de ello, se obtuvo polen en algunas pruebas de viabilidad correspondientes al estadio 2 (pre-antesis), aunque en estos casos la

cantidad de polen registrada fue menor que en los restantes estadios analizados (antesis). Estos resultados podrían estar revelando una apertura artificial de anteras debido a la manipulación de las muestras y a la exposición al calor de la luz de la lupa. Por otra parte, si el polen observado proviene de la apertura natural de las anteras, la dehiscencia previa a la antesis sería muy poco frecuente ya que las observaciones realizadas a campo comprueban que todas las anteras se encuentran cerradas cuando la flor abre. Difiriendo con lo hallado en *P. cattleyanum*, Caraballo (2001) constató que en *P. guajava* casi todas las anteras ya están dehiscentes en el momento de la apertura de la flor, lo que concuerda con el patrón “tipo *Psidium*” descrito por Proença y Gibbs (1994).

En términos generales, la morfología floral y el desarrollo de la flor fueron similares entre los materiales de *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* y *P. cattleyanum* f. *lucidum*. Las características morfológicas observadas de la flor en ambos materiales facilitan la autopolinización en el estadio E3 debido a la distancia cercana existente entre los estambres y el estigma en esta fase. La similitud de altura entre el estigma y las anteras de las series externas de estambres y su proximidad dada al inicio de la antesis posibilitan el pasaje de polen de las anteras al estigma en forma espontánea, es decir, sin vector de transferencia. Por otra parte, aquellos visitantes florales que debido a su pequeño tamaño y a la forma en que recorren los estambres en búsqueda de polen no alcanzaran a contactar ambos verticilos fértiles (masculino y femenino) en E4, podrían actuar como polinizadores efectivos en esta etapa (E3) al verse facilitada la transferencia de polen al estigma de la flor por la cercanía de las piezas florales. En este caso el polen trasladado podría provenir tanto de la propia flor (autopolinización) como de otras plantas (polinización cruzada). El incremento de la separación espacial entre las funciones de recepción y dispersión de polen puede disminuir la eficiencia de transferencia de polen si los visitantes florales contactan sólo anteras o estigmas al moverse de flor en flor (Webb y Loyd, 1986). La limitación para que ocurra autopolinización espontánea radica en que la dehiscencia de las anteras se produce cuando la flor presenta completamente expandidos los pétalos y estambres (E4), es decir, cuando la separación entre anteras y estigma es

máxima. Schmidt-Adam *et al.* (1999) observaron que en *Metrosideros excelsa* Gaertn. la separación horizontal entre estigma y anteras puede ser efectiva en la prevención de la autogamia sin intervención de polinizadores. En algunos casos del presente trabajo se observaron flores en E3 con anteras abiertas, habilitando el pasaje de polen hacia el propio estigma de la flor, aunque la exposición de polen en E3 sería poco frecuente. De esta manera, para que ocurra la polinización se requiere de la acción del viento o de visitantes florales que por su tamaño corporal o por el comportamiento que desarrollan en la flor sean capaces de establecer contacto con ambos verticilos fértiles en E4. Esto podría restringir el elenco de polinizadores efectivos en *P. cattleyanum* f. *lucidum* respecto a *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* ya que las anteras en E4 quedan a una separación superior del estigma debido al mayor tamaño de las flores. Por otra parte, el mayor tamaño de las flores de *P. cattleyanum* f. *lucidum*, constituye un mejor soporte para visitantes florales de mayor porte que no pueden ser sostenidos por las flores de *P. cattleyanum* var. *cattleyanum*. Existen observaciones en las que se ha relacionado las variaciones en la morfología floral en grupos taxonómicamente cercanos con diferencias en el espectro de polinizadores y con deposición diferencial de polen (Rodríguez y Sanoja, 2008). En las especies estudiadas de la familia Vochysiaceae, Rodríguez y Sanoja (2008) encontraron que no sólo el tamaño de la flor sino también su morfología son importantes para determinar el tamaño de los polinizadores de una especie particular.

El tiempo de vida determinado para la flor de *P. cattleyanum* es de un día, lo cual coincide con lo observado en otras Mirtáceas como *P. guajava*, *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh y algunas especies del género *Eugenia* (Maués y Couturier, 2002; Damián *et al.*, 2004; Gomes da Silva y Pinheiro, 2007). La mayor persistencia de las piezas florales hallada en *P. cattleyanum* f. *lucidum* respecto a *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* durante la vida de la flor y la senescencia, podría determinar un período de polinización más prolongado debido a que la señal para atraer a los visitantes florales (pétalos, estambres, aromas), así como la presencia de la recompensa floral representada por el polen, permanecen por más tiempo en las flores. De todas formas, la pérdida de turgencia y el cambio de coloración de las piezas florales propios de la

senescencia y la disminución de la cantidad de polen a lo largo del tiempo debilitan esta señal reduciendo notoriamente la frecuencia de visitas en esta etapa (Schmidt-Adam *et al.*, 1999; Maués y Couturier, 2002; Marshall *et al.*, 2010).

Coincidiendo con lo señalado por Proença y Gibbs (1994) para *P. firmum*, no se detectó secreción de néctar en las flores de *P. cattleyanum*, por lo que el recurso floral buscado por los visitantes florales se restringió a los granos de polen. En flores de *P. cattleyanum* f. *lucidum* se observó una especie de coleóptero consumiendo los estambres. Debido a la numerosa cantidad de estambres que poseen, parecería ser una característica común entre algunas especies de Myrtaceae el hecho de que los granos de polen actúen como atractivo floral primario y en algunos casos como único recurso floral ofrecido a los polinizadores (Proença y Gibbs, 1994; Gomes da Silva y Pinheiro, 2007).

Los valores medios de viabilidad de polen no superaron el 48%, presentándose en los ejemplares de frutos amarillos de INIA Las Brujas los valores más altos. Raseira y Raseira (1995) estimaron una viabilidad de 71 y 21% en *P. cattleyanum* f. *lucidum* y *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* respectivamente, mediante la técnica de tinción con carmín propiónico. Teniendo en cuenta que los métodos de tinción pueden sobreestimar los valores de viabilidad, los autores realizaron ensayos de germinación de polen *in vitro* en diferentes medios de cultivo en ejemplares de *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* y *P. cattleyanum* f. *lucidum* de distintas procedencias geográficas, los cuales arrojaron resultados muy variables. De acuerdo a este análisis, el porcentaje de germinación de polen en *P. cattleyanum* es bajo, con valores inferiores al 35%, y constatándose una muy baja viabilidad en dos de los cuatro tipos de materiales evaluados (Raseira y Raseira, 1995). Con la finalidad de determinar si la baja viabilidad de polen hallada en *P. cattleyanum* se debía a anomalías del polen o era ocasionada por factores externos, Raseira y Raseira (1995) analizaron el porcentaje de tétradas normales de polen ya que irregularidades en el comportamiento meiótico afectan la fertilidad. Los resultados obtenidos por estos autores evidencian que el porcentaje de tétradas normales es extremadamente bajo (tanto en materiales de *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* como de *P. cattleyanum* f. *lucidum*) lo que tal vez explicaría los bajos

porcentajes de germinación hallados por estos investigadores. Estudios ontogenéticos de las flores de *P. cattleyanum* comprendidos en el marco del presente proyecto, constatan una alta frecuencia de anomalías en la formación de los granos de polen que explican los valores nulos de viabilidad en materiales empleados en esta investigación (Souza y Speroni, 2014) y que confirman las observaciones realizadas por Raseira y Raseira (1995). A pesar de que la ausencia de polen viable resulta un factor limitante para la producción de frutos y semillas, podría ser un mecanismo favorable a la polinización cruzada ya que el polen en las flores serviría como recompensa para los visitantes florales que, atraídos por su presencia, podrían polinizar estas plantas con polen viable de otros individuos.

Un aspecto a destacar es la dificultad que se presentó en la obtención de polen para los estudios de viabilidad ya que, en la mayoría de los ejemplares analizados, muchas de las flores colectadas tenían una escasa o nula cantidad de polen. Raseira y Raseira (1995) realizaron el recuento de granos de polen por antera considerando la relevancia que cobra esta variable frente al bajo porcentaje de polen viable registrado en *P. cattleyanum*. Sus resultados revelan un número medio de granos de polen por antera comparado con el de otras especies, pero consideran que existe un gran número total de granos de polen por flor dada la elevada cantidad de estambres que poseen. Sería conveniente verificar si lo observado en el presente trabajo responde a una rápida remoción del polen de las flores por agentes de polinización (Maués y Couturier, 2002) o si está vinculado a la cantidad total de polen producida en las plantas examinadas. Raseira y Raseira (1995) señalan que este tipo de estudio es conveniente repetirlo al menos durante tres años ya que existen antecedentes en otras especies sobre la variación de un año a otro del número de granos de polen producidos por antera.

El período de receptividad estigmática, tanto en *P. cattleyanum* f. *lucidum* como en *P. cattleyanum* var. *cattleyanum*, es prolongado y abarca etapas de pre-antesis y antesis. Seth (1963) observó que el estigma en *P. cattleyanum* f. *lucidum* se vuelve receptivo el día en que la flor abre y permanece en esta condición hasta 72 horas, mientras que en las restantes especies del género evaluadas se registró una menor duración de la receptividad, comenzando al

día siguiente de la apertura de la flor. De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo, esta discrepancia sobre el momento en que el estigma se vuelve receptivo podría ser significativa si la dehiscencia de anteras se produjera en forma previa a la apertura de la flor (pre-antesis), favoreciendo de esta manera, la autopolinización de las flores. Sin embargo, las observaciones realizadas y lo determinado por Seth (1963) para *P. cattleyanum* f. *lucidum* demuestran que la dehiscencia de anteras ocurre unas horas después del inicio de la antesis, por lo que la autopolinización no se vería privilegiada por sobre la polinización cruzada.

El conjunto de características florales observadas en *P. cattleyanum* en el marco del presente trabajo indica que tanto la autopolinización como la polinización cruzada son eventos factibles. No se constataron mecanismos específicos, ya sea estructurales o funcionales, que impidieran o favorecieran exclusivamente alguno de estos tipos de polinización. Sin embargo, ciertos aspectos analizados en este trabajo podrían contribuir a que se vea favorecida la polinización cruzada. Por ejemplo, el periodo de algunas horas que separa la apertura floral y la dehiscencia de anteras, generándose una breve fase de protoginia (dicogamia), donde el estigma está receptivo pero las anteras no abrieron aún. En este lapso podría darse la polinización únicamente con polen proveniente de otras flores, aunque esto no abarcaría solamente la polinización cruzada sino que también podría incluir polen del mismo individuo (geitonogamia). No obstante, se observó que cuando no hay polen expuesto los visitantes no se detienen en las flores (Maués y Couturier, 2002; Marshall *et al.* 2010) o las recorren someramente sin establecer mucho contacto con las distintas piezas florales. La posibilidad de que ocurra polinización efectiva en este caso es menor que cuando hay exposición de polen en las anteras. La separación máxima entre estigma y estambres (E4) cuando se produce la dehiscencia de las anteras constituye una barrera mecánica (hercogamia) para la autopolinización espontánea, pero no impide la autopolinización mediante vectores de transferencia. Los resultados obtenidos en ensayos de polinización manual realizados en el marco del presente proyecto revelan un muy bajo porcentaje de fructificación en los tratamientos de autopolinización espontánea, lo que confirma la efectividad de la barrera de hercogamia y la necesidad de un

vector de polinización para que ocurra autopolinización (Speroni *et al.* 2014). Otro aspecto relevante es la ausencia de polen viable en cuatro de los cinco ejemplares de *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* evaluados. La fertilización de los óvulos debe producirse a partir de polen viable proveniente de otras plantas, por lo que en estos casos la alogamia es el único mecanismo posible de reproducción sexual. En este sentido, se torna fundamental avanzar en el estudio del sistema reproductivo de la especie mediante metodologías complementarias para establecer si existen barreras de autoincompatibilidad u otro mecanismo de reproducción asexual involucrado en la flor y dimensionar el efecto de esta situación en la biología reproductiva de las plantas bajo estudio. Asimismo, sería conveniente realizar nuevos análisis de viabilidad de polen que amplíen el muestreo a otros ejemplares, tanto de frutos rojos como amarillos, para determinar el estatus general de la fertilidad masculina en la especie.

Estos resultados reafirman la importancia de conocer las condiciones en las que se encuentra el polen previo a la realización de cruzamientos dirigidos ya que su éxito depende de la aplicación de polen viable sobre un estigma receptivo compatible (Stone *et al.* 1995, Page *et al.* 2006). El análisis de la biología intrafloral contribuye a la planificación del trabajo experimental y a una adecuada interpretación de resultados (Stone *et al.* 1995, Speroni *et al.* 2009). El complemento de esta investigación mediante otros abordajes permitirá profundizar en la comprensión y caracterización del sistema reproductivo de *P. cattleyanum*.

6.- CONCLUSIONES

- El periodo de desarrollo floral abarca aproximadamente dos meses desde el momento en que la yema se torna visible hasta la apertura de la flor, tanto en *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* como en *P. cattleyanum* f. *lucidum*.
- Se constata un desarrollo y morfología floral de características similares entre los ejemplares evaluados de *P. cattleyanum* var. *cattleyanum* y *P. cattleyanum* f. *lucidum*. Las diferencias halladas a nivel del tamaño de la flor y de las piezas florales podrían contribuir como fuente de caracteres para la confirmación de diferentes entidades taxonómicas entre dichos materiales.
- La antesis se inicia tempranamente en la mañana (6:30 a.m.) y la vida de la flor es de un día en ambos materiales.
- La dehiscencia de las anteras se produce unas horas después del comienzo de la antesis en ambos materiales.
- El polen constituye, en general, el único recurso floral buscado por los polinizadores en las flores de *Psidium cattleyanum*.
- El amplio periodo de receptividad estigmática determinado en ambos materiales no representa un factor limitante para la polinización efectiva.
- La ausencia de polen viable en la mayoría de los ejemplares de frutos rojos examinados es una limitante para el éxito reproductivo por vía sexual de los materiales seleccionados.
- Las características morfo-funcionales observadas señalan que tanto la autopolinización como la polinización cruzada son eventos posibles en las flores de *P. cattleyanum*.

- El estadio E4 se identificó como la fase floral más propicia para la polinización natural debido a que ambos verticilos fértiles se encuentran funcionales y la señal para atraer a los visitantes florales mantiene su vigor.
- Para tratamientos de polinización manual se determinó que el estadio E2 es el más apropiado para la emasculación y utilización de polen externo ya que el estigma se encuentra receptivo y las anteras de la flor receptora aún permanecen cerradas.

7.- BIBLIOGRAFÍA

Andres, M.V., J. Rodríguez y J.M. Duran. 1999. Viabilidad de polen en albaricoquero (*Prunus armeniaca* L.). Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg. Vol. 14 (1-2).

Brack, P., V. Ferreira Kinupp, M.E. Guerra Sobral. 2007. Levantamento preliminar de espécies frutíferas de arvores e arbustos nativos com uso atual ou potencial do Rio Grande do Sul. Rev. Bras. Agroecologia 2(1): 1769-1772.

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

Cabrera, D., B. Vignale, J.P. Nebel, A. Feippe, R. Zoppolo, A. Castillo. 2008. INIA y los frutos nativos de nuestra tierra. Revista INIA – N° 14.

Caraballo, B.M. 2001. Biología floral del guayabo (*Psidium guajava* L.) en la Planicie de Maracaibo, Zulia, Venezuela. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 18: 41- 55.

Carrere, R. 2010. Monte indígena. Mucho más que un conjunto de árboles. Ed. Nordan Comunidad. Montevideo- Uruguay. 108 pp.

Cook, S.A. y R.G. Stanley. 1960. Tetrazolium chloride as an indicator of pine pollen germinability. Silvae Genetica 9: 121-148.

Coradin, L., A. Siminski y A. Reis, eds. 2011. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul. Brasília: Ministério do Meio Ambiente – MMA. 934 pp.

Crocce, C. 2012. Frutos nativos: algunas experiencias de Montevideo para apoyar su explotación comercial. VI Encuentro Nacional sobre Frutos Nativos – INIA Las Brujas, Uruguay. Serie Actividades de Difusión N° 679: 62-65.

Damián, A., V.A. González, P. Sánchez, C.B. Peña, M. Livera y T. Brito. 2004. Crecimiento y fenología del guayabo (*Psidium guajava* L.) cv. "media china" en Iguala, Guerrero. *Revista Fitotecnia Mexicana* 27(4): 349-358.

Danner, M.A., I. Citadin, S.A. Zolet Sasso, M. Robson Sachet y R. Ambrosio. 2010. Fenología da floração e frutificação de mirtáceas nativas da floresta com araucária. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal –SP. 32(1): 291-295.

Degener, O. 1939. *Flora Hawaiensis: the new illustrated flora of the Hawaiian islands*, fam. 273. *Psidium cattleianum*. Publ. Privately. Honolulu.

Franzon, R.C. 2012. Fruteiras nativas do sul do Brasil. VI Encuentro Nacional sobre Frutos Nativos – INIA Las Brujas, Uruguay. Serie Actividades de Difusión N° 679: 12-15.

Franzon, R.C., L.Z. de Oliveira Campos, C.L. Barnes Proença y J.C. Sousa-Silva. 2009. Araçás do gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrência, descrição e usos. EMBRAPA Cerrados. Documento 266. 48 pp.

Gomes da Silva, A.L. y M.C. Pinheiro. 2007. Biología floral e da polinização de quatro espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae). *Acta bot. Bras.* 21(1): 235-247.

Heywood, V.H. (Ed.). 1979. *Flowering plants of the World*. Oxford University Press. 336 pp.

Jolochin, G.S. 2010. Revisión de Myrtaceae de la Flora de Uruguay. Resúmenes del X Congreso Latinoamericano de Botánica, La Serena, Chile.

Legrand, D. 1936. Las Mirtáceas de Uruguay. *Anales del Museo de Historia Natural de Montevideo*. 2ª Serie. IV, N°11. 71pp.

Legrand, D. 1968. Las Mirtáceas del Uruguay III. *Boletín Facultad Agronomía*, N° 101. 80pp.

Legrand, C.D. y R.M. Klein, 1977. Mirtáceas. En: Flora Ilustrada Catarinense. P.R. Reitz ed., 1977. I parte: As plantas. Fasc.: Mirt. 158 pp.

Lisbôa, G.N., V.F. Kinupp e I.B.I. de Barros. 2011. *Psidium cattleianum*. En: Coradin, L., A. Siminski y A. Reis, eds. 2011. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul. Brasília: Ministério do Meio Ambiente – MMA. 934 pp.

Marshall, D.L., J.J. Avritt, S. Maliakal-Witt, J.S. Medeiros y M.G.M. Shaner. 2010. The impact of plant and flower age on mating patterns. *Annals of Botany* 105: 7-22.

Martínez, N., B. Vignale, F. Montes y E. Dellacasa. 2010. Caracterización de frutos nativos del Uruguay según su valor nutricional. Resúmenes del V Encuentro Nacional sobre Frutos Nativos – Salto, Uruguay. Ed. INIA, Serie Actividades de Difusión N° 602: 34-36.

Maués, M.M. y G. Couturier. 2002. Biología floral e fenología reproductiva do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae) no Estado Pará, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 25(4): 441-448.

Page, T., G.M. Moore, J. Will y G.M. Halloran. 2006. Onset and duration of stigma receptivity in *Kunzea pomifera* (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany* 54: 559-563.

Pearse, A.G.E. 1972. Histochemistry theoretical and applied. 2nd ed. Churchill Livingstone, Edinburg, Uk.

Proença, C.E.B. y P.E. Gibbs. 1994. Reproductive biology of eight sympatric Myrtaceae from Central Brazil. *New Phytol.* 126: 343-354.

Raseira, M. do C. B, L.E.C. Antunes, R. Trevisan y E. D. Gonçalves (eds.). 2004. Espécies frutíferas nativas do Sul do Brasil. Pelotas: EMBRAPA Clima Temperado. Documento 129. 124 pp.

- Raseira, M. do C.B y A. Raseira. 1995. Contribuição ao estudo do araçazeiro, *Psidium cattleianum*. Pelotas: EMBRAPA-CPACT. 95 pp.
- Rodríguez, L. y E. Sanoja. 2008. Fenología, biología floral y de polinización de especies de la familia Vochysiaceae en la Guayana venezolana. Acta Botánica Venezolana. 31 (2): 331-366.
- Rosano, L., P. Rama, B. Vignale, D. Cabrera, F. Neves, M. Rodríguez y A. Arcauz, 2012. Recetario de frutos nativos del Uruguay. 98 pp.
- Sabine, E. 1821. Transactions of the Horticultural Society of London 4: 315–317.
- Schmidt-Adam, G., K.S. Gould y B.G. Murray. 1999. Floral biology and breeding system of pohutukawa (*Metrosideros excelsa*, Myrtaceae). New Zealand Journal of Botany. 37: 687-702.
- Seth, J.N. 1963. Morphological and cross-incompatibility studies in some species of *Psidium*. En: Ellshoff, Z.E., D.E. Gardner, Ch. Wikler y C.W. Smith. 1995. Annotated bibliography of the genus *Psidium* with emphasis on *P. cattleianum* (strawberry guava) and *P. guajava* (common guava), forest weeds in Hawaii. Cooperative National Park resources studies Unit, University of Hawaii at Manoa, Dept. of Botany. Technical Report 95. 105 pp.
- Shivanna, K.R. y N.S. Rangaswamy. 1992. Pollen biology. A laboratory manual. Springer-Verlag. 82 pp.
- Souza, M. y G. Speroni. 2014. Caracterización embriológica de la especie frutal nativa *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae). XI Congreso Latinoamericano de Botánica. Salvador, Bahía, Brasil.
- Speroni, G., P. Izaguirre, G. Bernardello y J. Franco. 2009. Intrafloral phenology of *Trifolium polymorphum* Poir. (Leguminosae) aerial flowers and reproductive implications. Acta Botanica Brasílica 23(3): 881- 888.

Speroni, G., C. Mazzella, B. Vignale, C. Pritsch, D. Cabrera, M. Bonifacino, M. Quezada, M.P. Silva, G. Jolochin, A. Tardáguila, P. Gaiero, C. Millán, C. Trujillo. 2012. Estudios biológicos y taxonómicos en la especie frutal nativa *Psidium cattleianum* (Myrtaceae). VI Encuentro Nacional sobre Frutos Nativos – INIA Las Brujas, Uruguay. Serie Actividades de Difusión N° 679: 23-35.

Speroni, G., C. Trujillo, C. Millán, D. Cabrera y B. Vignale. 2014. Rol de la polinización en la biología reproductiva de *Psidium cattleyanum* Sabine (Myrtaceae). XI Congreso Latinoamericano de Botánica. Salvador, Bahía, Brasil.

Stone, J.L, J.D. Thomson y S.J. Dent-Acosta.1995. Assessment of pollen viability in hand-pollination experiments: a review. American Journal of Botany 82(9): 1186-1197.

Vignale, B. 2010a. Selección de frutales nativos. Seminario “Conservación y uso sostenible de la biodiversidad”. Piriápolis - Uruguay.

Vignale, B. 2010b. Selección de frutales nativos. Seminario “Monte Nativo: Patrimonio natural y cultural del Litoral Norte”. Paysandú- Uruguay.

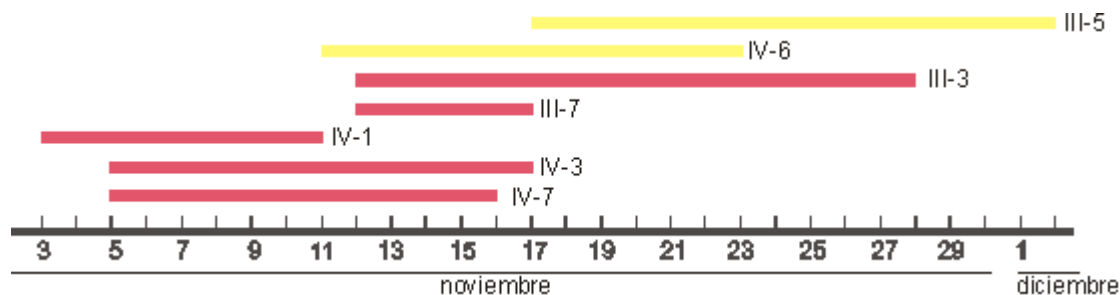
Vignale, B., D. Cabrera, J.P. Nebel, P. Lombardo, P. Rodríguez, R. Zoppolo y C. Pereira. 2012. Selección de frutas nativas. Avances. VI Encuentro Nacional sobre Frutos Nativos – INIA Las Brujas, Uruguay. Serie Actividades de Difusión N° 679: 38-44.

Webb, C.J. y D.G. Lloyd. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms. II. Herkogamy. New Zealand Journal of Botany. 24: 163-178.

Wilson, P.G., M.M. O’Brien, P.A. Gadek y C.J. Quinn. 2001. Myrtaceae revisited: a reassessment of infrafamilial groups. American Journal of Botany 88(11): 2013–2025.

ANEXO

Periodo de floración de los materiales de *Psidium cattleianum* estudiados en la Estación Experimental de Facultad Agronomía Salto durante la primavera de 2011. Se estableció como inicio y final de la floración la fecha en que la planta poseía el 10% de las flores en antesis y el 90% de flores senescentes, respectivamente.



Datos meteorológicos de la Estación Experimental de Facultad de Agronomía Salto (EEFAS) y del Instituto de Investigación Agropecuaria (INIA) Las Brujas - Canelones. Se indican valores medios de temperatura (°C) y precipitación acumulada mensual (mm) de setiembre a diciembre de 2011 en cada Estación Experimental.

Est. Exp. Facultad Agronomía Salto	Setiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
Temp. media mensual (°C)	16,5	18,0	22,5	23,2
Temp. máxima media (°C)	22,9	22,8	29,2	30,1
Temp. mínima media (°C)	10,0	13,2	16,1	16,4
Precipitación acumulada mensual (mm)	137,5	184,1	72,3	22,1

INIA Las Brujas	Setiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
Temp. media mensual (°C)	13,43	15,5	20	20,3
Temp. máxima media (°C)	19,55	20,3	26,51	26,03
Temp. mínima media (°C)	7,25	10,63	13,45	14,52
Precipitación acumulada mensual (mm)	20,5	74,2	138,8	63,6