

## 25. Medio Ambiente

### **Aspectos reproductivos y visitantes florales de *Richardia brasiliensis* Gomes (Clado Spermacoce, Rubiaceae) en poblaciones naturales del Parque Provincial San Cayetano**

Nicora Chequín, R.; Miguel, L. M. & E.L. Cabral

[nicorachequin@gmail.com](mailto:nicorachequin@gmail.com); [lailammichel@yahoo.com.ar](mailto:lailammichel@yahoo.com.ar); [elsaleonorcabral@gmail.com](mailto:elsaleonorcabral@gmail.com)

Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agrimensura

Universidad Nacional del Nordeste

---

#### **Resumen**

*Richardia brasiliensis* Gomes (clado Spermacoce, Rubiaceae) es un sufrutice sudamericano, sobre el cual se han llevado a cabo los primeros estudios sobre su biología floral. En el Parque Provincial San Cayetano (Corrientes) se delimitaron poblaciones de *R. brasiliensis* para analizar diferentes aspectos de su biología floral. Morfología de los verticilos florales: estudiada mediante mediciones realizadas en campo y en laboratorio; los caracteres de los botones florales fueron observados con microscopio electrónico de barrido. Fenología reproductiva: se registró el horario y sincronización de la antesis a través de observación directa de las poblaciones; se testeó la receptividad estigmática y la viabilidad polínica en diferentes estadios florales. Sistema reproductivo: se aplicaron tratamientos de autopolinización espontánea, polinización cruzada, apomixis y control, a fin de evaluar la producción de frutos en cada caso. Se calculó el Índice de cruzamiento y la Razón polen/óvulo. Además, se observó el crecimiento de tubos polínicos mediante el uso de microscopio de fluorescencia. Diversidad de visitantes florales: se registró el comportamiento de los insectos, los cuales fueron capturados con red entomológica, montados e identificados al menor nivel taxonómico posible. Como resultado de los estudios realizados, se concluye que las flores de *Richardia brasiliensis* poseen adaptaciones morfológicas, fenológicas y reproductivas que les permiten prescindir de factores externos para la polinización y producción de semillas. A pesar de no poseer estructuras reproductivas especializadas, es utilizada como fuente de recursos por una gran variedad de insectos: Diptera (3), Apidae (3), Trigonalydae (1) y Formicidae (6).

**Palabras clave:** Rubiaceae, *Richardia brasiliensis*, biología reproductiva, visitantes florales

## Introducción

El término biología reproductiva define a todas las manifestaciones de vida dentro de la flor, desde la antesis hasta la efectiva fertilización (Faegri & Van der Pijl 1980). En angiospermas, la polinización de los óvulos puede ser alógama (con polen de una flor distinta) o autógama (con polen de la misma flor). Las flores monoclinas que no presentan adaptaciones para evitar la autopolinización pueden autofecundarse. Este mecanismo, es generalmente considerado desventajoso por aumentar la probabilidad de que alelos recesivos que determinan menor eficacia biológica y adquieran un estado homocigota (Wells 1978). Sin embargo, podría resultar conveniente en situaciones en que los polinizadores sean escasos, en condiciones ambientales adversas que no permitan la dispersión del polen, cuando nuevas poblaciones se fundan a partir de individuos aislados o bien cuando el estado homocigota recesivo es ambientalmente más apto (Musicante & Galetto 2008; Richards 1986; Wells 1978). En Rubiaceae, los trabajos sobre biología floral se centraron en especies arbóreas y heterostilas, siendo escasos los estudios en especies homostilas. Dentro del clado Spermacoce (Rubiaceae) se encuentra el género *Richardia* con 15 especies. Se selecciona a *Richardia brasiliensis* Gomes

por su condición de maleza en cultivos de arroz y yerba mate. Se trata de un sufrútice nativo de América del Sur que fue estudiado desde aspectos fitoquímicos (Adekunle 2000), farmacológicos (Pinto *et al.* 2008), taxonómicos (Lewis & Oliver 1974) y de control químico (Sharma & Singh 2001). Sin embargo, se desconocen datos sobre su biología reproductiva.

## Objetivos

Como aporte a los estudios multidisciplinarios realizados en el clado Spermacoce, se propone: (1) estudiar la biología floral de *R. brasiliensis*, a partir del análisis morfológico y fenológico; (2) investigar aspectos de su sistema reproductivo y (3) conocer los visitantes florales en poblaciones naturales.

## Materiales y Métodos

### Área de estudio

Los estudios se realizaron en el Parque Provincial San Cayetano (Corrientes) (27° 30' S, 58° 41' W), donde se delimitaron tres parcelas con poblaciones en las cuales se realizaron observaciones de la fenología y visitantes florales. Además, se extrajeron plantas que fueron mantenidas en macetas para los tratamientos de sistema reproductivo.

### Análisis Morfológico

Se observaron y fotografiaron poblaciones de *R. brasiliensis* en su ambiente natural.

Se midió con calibre digital el diámetro de 50 inflorescencias y además, en 50 flores se registraron: longitud total, diámetro de corolas y tubos florales. Estas flores fueron conservadas en FAA 70% (Formol, ácido acético y alcohol) para el posterior análisis de las restantes estructuras reproductivas en laboratorio. El análisis de los caracteres diagnósticos se llevó a cabo mediante microscopio estereoscópico con cámara clara Leica MZ 6 y microscopio estereoscópico Leica CLS 100X con cámara fotográfica digital acoplada. Además, los caracteres morfológicos de los botones florales fueron observados con microscopio electrónico de barrido JEOL 5800 LV perteneciente al servicio de microscopía de la SGCyT-UNNE. Para ello, los botones florales fueron conservados, diseccionados, sometidos a una serie de deshidratación creciente de acetona y secado a punto crítico. Posteriormente, fueron montados en una placa de aluminio y bañados en oro paladio para su observación.

#### Fenología reproductiva

**Sincronización de la antesis:** se registró el horario y la sincronización de apertura en 227 botones florales. Desde la primera antesis, se contabilizaron las corolas que se expandían en períodos de 15 minutos, extrayéndolas para que no sean registradas dos veces. Además, durante todo el período de estudio (12 meses

aproximadamente) se registró el desarrollo y longevidad de las flores, desde la antesis hasta la caída de las corolas. **Receptividad estigmática:** fue verificada en estadios de botón floral y durante la antesis cada 60 minutos, en un total de 55 flores de diferentes inflorescencias (aisladas en pre-antesis con bolsas de papel vegetal). Se adicionó peróxido de hidrógeno a 10 volúmenes sobre el estigma de cada flor, al cual se consideró receptivo al advertirse burbujeo (Zeisler 1938). **Viabilidad polínica:** se realizaron 20 preparados. Cada uno consistió en la descarga de la totalidad de granos de polen de 1 botón floral fresco en una gota de carmín acético 1,2% (Radford *et al.* 1974). Luego se contabilizaron 50 granos de polen por preparado, y se los clasificó como viables a aquellos que presentaban contenido citoplasmático coloreado y morfología normal.

#### Sistema Reproductivo

**Razón polen/óvulo:** en 10 botones fijados se contabilizaron el total de granos de polen y óvulos por flor. Se verificó el resultado en la tabla propuesta por Cruden (1977) según la cual, la razón entre granos de polen y el número de óvulos está relacionado con el sistema reproductivo. **Índice de cruzamiento (OCI):** (Cruden, 1977) se determinó mediante la suma de valores asignados a

tres características florales: diámetro de la corola; separación temporal de la dehiscencia de la antera y la receptividad estigmática; y relación espacial de anteras y estigma.

#### Tratamientos experimentales

Se realizaron cada uno de los tratamientos experimentales, en 20 botones, para comprobar la formación o no de frutos y determinar el sistema de reproducción de la especie.

#### **Autopolinización espontánea:**

glomérulos con botones florales próximos a anthesis fueron aisladas con sobres de papel vegetal y no recibieron ningún tratamiento posterior. **Apomixis:** previo a la dehiscencia de las anteras, los botones florales fueron emasculados para evitar la autopolinización. El proceso de emasculación consistió en extraer la corola a la cual está fusionado el androceo. Las macetas fueron aisladas con papel film, para evitar la llegada de polen externo.

**Polinización cruzada manual:** los botones florales fueron emasculados y sus estigmas fueron polinizados con granos de polen provenientes de individuos de poblaciones situadas a más de 100 m de distancia de la planta receptora. Luego se aislaron las macetas con papel film.

**Control:** las inflorescencias de individuos de diferentes poblaciones, fueron marcadas en condiciones naturales de polinización.

#### Crecimiento de tubos polínicos

Se observó con microscopio de epifluorescencia del Laboratorio de Citogenética del Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE-UNNE-CONICET), la germinación de granos de polen y crecimiento de tubos polínicos en 20 botones florales. Estos botones fueron fijados en FAA 70%, luego se trató al estilo y estigma con solución de NaOH 10N y se coloreó con azul de anilina (Martin 1959).

#### Determinación de visitantes florales

Se realizaron 50 horas de observación de visitantes florales durante los meses de Diciembre (2016), Enero, Febrero, Marzo y Septiembre (2017). Se registraron horario y comportamiento de los visitantes, que además fueron capturados con ayuda de una red entomológica y cámaras mortíferas (frascos con algodón embebido en acetona). Posteriormente, fueron montados e identificados al menor nivel taxonómico posible, con ayuda de especialistas del Laboratorio de Artrópodos de FaCENA-UNNE. Por último, se analizó la superficie de los cuerpos de los insectos para corroborar la presencia de granos de polen de *R. brasiliensis*, mediante microscopio óptico.

#### **Resultados y Discusión**

*Richardia brasiliensis* es un sufrútice anual o perenne de hasta 21 cm de altura, con hojas sésiles elípticas-ovadas. Las flores

hexámeras se disponen en glomérulos terminales. El cáliz gamosépalo es persistente hasta la madurez del fruto. La corola es blanca con el margen de los lóbulos rosados, gamopétala e infundibuliforme. El androceo está constituido por (4-5)-6 filamentos exsertos, soldados a lo largo del tubo corolino y libres a partir del seno de los lóbulos de la corola, con anteras ditecas de dehiscencia longitudinal. El estigma es trifido. Presenta un disco nectarífero anular y entero, rodeando la base del estilo, y permanece activo luego de caer la corola. El ovario es ínfero, tricarpelar, uni-ovulado y desarrolla un fruto esquizocárpico, separado en 3 mericarpos estrigosos. Las semillas son lisas, comprimidas, de contorno obovado.

La especie se encuentra en flor durante todo el año, con glomérulos que producen hasta 50 flores que permanecen abiertas durante 7 horas.

El estigma se encontró receptivo y las anteras dehiscentes desde estadio de botón; además se corroboró el crecimiento de los tubos polínicos ingresando al estilo de la flor también en estado de botón. Por último se observó la formación de frutos en flores ensacadas desde pre antesis. Estas características se presentan como adaptación para asegurar su propagación en entornos perturbados, como cultivos o ambientes modificados en primeros estadios sucesionales.

En cuanto a los insectos capturados, se observaron principalmente especies de himenópteros y dípteros de pequeño tamaño que utilizaban como recursos florales, corolas, polen y néctar. Además, al analizar la deposición de los granos de polen de la superficie del cuerpo de estos visitantes florales, se observó granos de polen de *R. brasiliensis* y de otras especies, lo cual indica que los visitantes no son exclusivos de la especie estudiada.

### Conclusiones

Se logró determinar el sistema reproductivo de la planta y relacionarlo con el rol ecológico que ocupa. Además, se han podido identificar los visitantes florales y el recurso obtenido por ellos, indicando quienes actuarían como polinizadores efectivos.

### Bibliografía

- Adekunle, A.A. 2000. Antifungal property of the crude extracts of *Brachystegia eurycoma* and *Richardia brasiliensis*. *Nigerian Journal of Natural Products and Medicine*. 4:70-72.
- Cruden, W. 1977. Pollen-ovule ratios: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31: 32-46.
- Faegri, K. & L. Van der Pijl. 1980. The principles of pollination ecology. Pergamon Press, New York.

- Lewis, W.H. & R.L. Oliver. 1974. Revision of *Richardia* (Rubiaceae). *Brittonia* 26: 271-301.
- Martin, W.M. 1959. Staining and Observing Pollen Tubes in the Style by Means of Fluorescence. *Stain Technology* 34: 125-128.
- Musicante, M.L. & L. Galetto. 2008. Biología reproductiva de *Cologonia broussonetii* (Fabaceae, Faboideae). *Darwiniana* 46: 7-16.
- Pinto, D.S.; Tomaz, A.C.; Tavares, J.F.; Tenório-Souza, F.H.; Dias, C.; Braz-Filho, R. & E.V.L. Cunha. 2008. Secondary metabolites isolated from *Richardia brasiliensis* Gomes (Rubiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 18: 367-372.
- Radford, A.E.; Dickinson, W.C.; Massey, J.R. & C.R. Bell. 1974. Vascular plant systematic. Harper & Row Publisher, New York.
- Richards, A. J. 1986. Plant breeding systems. G. Allen & Unwin, London.
- Sharma, S.D. & M. Singh. 2001. Surfactants increase toxicity of Glyphosate and 2,4-D to Brazil Pusley. *Hortsciense* 36(4): 726-728.
- Wells, H. 1978. Self-fertilization: advantageous or deleterious? *Evolution* 33: 252-255.
- Zeisler, M. 1938. Über die Abgrenzung der eigentlichen Narbenfläche mit Hilfe von *Reaktionen*. *Beihefte zum Botanischen Centralblatt* 58: 308-318.

### Agradecimientos

A la Dra. Miryam Pieri Damborsky, Lic. Darío Larrea y Lic. Matías Dufek del Laboratorio de Artrópodos de la UNNE, por la ayuda en la determinación de los insectos. A la Ing. Agr. Irene Caponio por sus sugerencias en cuanto a los tratamientos reproductivos. A los integrantes del Laboratorio de Anatomía y del Laboratorio de Citogenética del IBONE. Al Dr. Martin Kowalewski, Prof. Bernardo Holman, Martin Sánchez y Conrado Holzer de la Estación Biológica Corrientes y Parque Provincial San Cayetano.

### Financiamiento

Este trabajo fue realizado en el marco de una Beca de Estímulo a las Vocaciones Científicas (Becas EVC – CIN).

