

## **Análise das propriedades óticas dos frutos e ensaio de técnicas de reprodução vegetativa de *Corema album* em condições de viveiro**

Díaz-Barradas M.C.<sup>1</sup>; Martín-Cordero C.<sup>2</sup>; Navarro-Zafra I.<sup>3</sup>; Costa C.<sup>4</sup> & Correia O.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dpto Biología Vegetal y Ecología. Facultad de Biología. Universidad de Sevilla. España

<sup>2</sup>Dpto. Farmacología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. España

<sup>3</sup>Dpto. Química Física. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. España

<sup>4</sup>Centre for Ecology, Evolution & Environmental Changes *cE3c*, Univ. de Lisboa

### **Resumo**

*Corema album* é um arbusto dioico, endémico da costa atlântica da Península Ibérica, que produz numerosos frutos similares a bagas brancas durante o verão. Os objetivos deste estudo foram analisar as propriedades óticas destas bagas e desenvolver um sistema de reprodução vegetativa desta espécie em condições de viveiro. Pretende-se desta maneira obter plantas que possam ser utilizadas em projetos de restauração e também para o desenvolvimento dum sistema de agricultura sustentável.

Analisou-se a refletância das bagas no laboratório por meio de um refletómetro (UniSpec-DC) e os resultados revelaram que possuem uma elevada refletância no UV. Para os ensaios de reprodução vegetativa utilizaram-se estacas terminais (10 cm) cortadas de plantas em condições naturais. As estacas foram plantadas em placas de alvéolos depois de um tratamento com uma hormona enraizante e fizeram-se diferentes ensaios em condições de viveiro. Os melhores resultados obtiveram-se com raminhos de plantas adultas, num ambiente húmido.

**Palavras-chave:** bagas, camarinha, dunas, reprodução por estaca, refletância.

### **Abstract**

#### **Analysis of the optical traits of *Corema album* berries and study of different techniques of vegetative reproduction**

*Corema album* is a wild shrub endemic of the Iberian Peninsula, presenting white berries that ripen in summer. The objectives of this study were to analyse the colour properties of *C. album* berries and to develop a mechanism for vegetative reproduction of the species under greenhouse conditions in order to have plants to reintroduce in the field and to develop a model of sustainable agriculture.

We analysed the reflectance of berries in the laboratory by means of a reflectometer UniSpec-DC. Terminal branches (10 cm), from well-developed plants, were collected in the field and transported to the laboratory, where they were planted in perlite-vermiculite pots after a hormone treatment.

The results of this study showed that berries exhibited an elevated reflectance in UV (300-400 nm) while it is low and remain constant in the visible light. Mature slightly pink berries progressively lose these optical properties.

The results of the vegetative reproduction have revealed that the best system is to introduce the branches collected from adult plants in a humid chamber, but it is important to improve the technical system.

**Keywords:** berries, camarinha, dunes, reflectance, vegetative reproduction

## Introdução

A camarinha (*Corema album* (L.) D. Don (Ericaceae)) é um arbusto dioico, multiramificado, com folhas ericoides, que cresce sobre dunas e arribas ao longo da costa atlântica da Península Ibérica. A sua área de distribuição estende-se desde a Costa da Morte no NW da Galiza até às proximidades de estreito de Gibraltar no sul de Espanha (Alvarez-Cansino et al., 2013). No entanto, existem outras pequenas populações descritas na literatura, como a subespécie *azoricum* (Pinto da Silva) endemismo dos Açores, uma população isolada nas arribas da costa de Alicante e outra nas Landas francesas (no entanto esta última parece que foi levada pela imperatriz Eugénia de Montijo).

Durante os meses de fevereiro a março as plantas masculinas produzem numerosas inflorescências terminais que são polinizadas pelo vento. As flores femininas são extremamente pequenas, quase impercetíveis e os frutos desenvolvem-se ao longo da primavera e amadurecem no verão. As plantas femininas podem produzir centenas a milhares de bagas brancas (quando estão muito maduras ligeiramente rosadas), parecidas a pérolas, que são dispersadas pelos animais das dunas e que durante séculos foram também consumidas pelas populações locais (Gil-López, 2011, Oliveira & Dale, 2012). No sudoeste de Espanha, área de Doñana, as plantas femininas produzem uma média de 4000 frutos/m<sup>2</sup> de cobertura de planta, e chegam-se a colher 15 000 frutos num só indivíduo (dados não publicados). O comprimento dos frutos, ao longo da sua área biogeográfica, varia entre 6,31 a 12,99 mm (Larriaga & Guitián, 2016). Oitenta por cento do peso fresco das bagas é água (Zunzunegui et al., 2006), sendo muito ricas em compostos fenólicos (León-González et al., 2013). Cada fruto contém 3 sementes (excecionalmente 2 ou 4), cujo comprimento médio é de 3,75 mm e a largura de 2,81 mm (Larriaga & Guitián, 2016).

Os nossos estudos recentes mostraram que as bagas de *C. album* apresentam uma elevada refletância no UV (70-80%). Os ácidos ursólico e oleanólico que são triterpenos-pentacíclicos são os responsáveis pela refletância no UV (Diaz-Barradas et al., 2016).

A área de distribuição de *C. album* está a diminuir progressivamente ao longo das faixas costeiras da Península Ibérica, nomeadamente devido as urbanizações de recreio, às plantações florestais como os pinheiros e as espécies exóticas de carácter invasor como a Acácia que não só apresenta uma competição física com a camarinha mas também modifica as propriedades do solo (Rascher et al., 2012).

Devido à importância ecológica, histórica e fitoquímica desta planta é importante desenvolver um protocolo de reprodução em viveiro com a dupla finalidade de servir para projetos de conservação e para o desenvolvimento dum sistema de agricultura sustentável em zonas costeiras.

Os objetivos deste trabalho são dois:

- 1) Analisar as propriedades físicas dos frutos para avaliar o seu papel ecológico e a sua possível aplicação comercial.
- 2) Desenvolver um protocolo de reprodução vegetativa desta espécie.

## Material e Métodos

### Propriedades dos frutos

No mês de setembro, colheram-se frutos frescos no campo tanto na Fonte da Telha (Portugal), como na zona de Doñana (Espanha). Os frutos foram transportados em frio e mantidos no frigorífico para o estudo das propriedades físicas. Colheram-se frutos completamente brancos e rosados.

A refletância dos frutos foi medida com um reflectómetro UniSpec-DC (PP Systems) que toma medidas pontuais de refletância no espectro entre 300 e 1100 nm, e calcula os resultados como uma percentagem em relação a um branco de referência. As medições foram efetuadas em 10 frutos brancos e 10 frutos rosados.

#### Técnicas de reprodução vegetativa

A domesticação da camarinha continua a ser um problema de grande interesse. Desde à mais de dois anos que se desenvolvem estudos com o objetivo de encontrar uma técnica de reprodução vegetativa para a espécie utilizando raminhos terminais (estacas), colhidas em plantas silvestres durante o outono e inverno (os primeiros ensaios foram desenvolvidos por Álvarez-Cansino num projeto de cooperação com a Junta de Andaluzia, Espanha). A base desta técnica consiste em colher no campo raminhos terminais (semilignificados) de plantas selecionadas pelo seu vigor ou capacidade de produção de frutos, e transportá-los para o laboratório em condições de frio. Uma vez no laboratório retiraram-se as folhas basais e os raminhos foram submergidos numa hormona enraizante (Ácido indolbutírico a 0,2% e 0,4%) sendo de seguida introduzidos em placas de alvéolos cheias com uma mistura de perlite e vermiculite. É preciso esperar 3 a 4 meses para se obterem as primeiras raízes. Os raminhos que produzem raízes são retirados e transportados para vasos individuais com uma mistura de solo orgânico, areia e perlite.

No primeiro ano, no qual foram utilizadas plantas de todas as idades, os resultados não foram satisfatórios tendo-se obtido apenas 4% de enraizamento. Numa segunda experiência, realizada em 2015, foram colhidas no campo 400 estacas (10 por planta) de 20 indivíduos masculinos e de 20 femininos. Todos os indivíduos eram adultos e bem desenvolvidos e encontravam-se a 1000 metros da arriba, na zona de Cuesta Maneli (Parque Natural de Doñana). Duzentas estacas foram tratadas e plantadas diretamente no campo para evitar problemas de transporte. As outras 200 estacas foram transportadas para o laboratório e tratadas com a solução hormonal tendo sido separadas em dois grupos: Uma das placas de plantação foi coberta com uma caixa de plástico transparente para criar uma estufa e desta maneira aumentar a humidade relativa ambiental e a outra foi deixada aberta na câmara de cultura, com as restantes placas trazidas do campo.

As placas foram regadas e humificadas diariamente, tratadas com uma solução antifúngica uma vez por mês e passados 4 meses começou-se a controlar os raminhos que tinham produzido raízes. O processo continuou ao longo de mais 3 meses.

#### **Resultados e discussão**

Os frutos brancos de *C. album* apresentaram uma elevada refletância no UV, que pode superar os 90% em relação ao branco de referência. No espectro visível a refletância é baixa e constante, mantendo-se à volta dos 30%. Os frutos rosados mantêm a mesma forma do espectro, mas com valores muito inferiores na refletância (Figura 1).

Existem numerosos animais que têm visão no UV, nomeadamente numerosas aves (Jacobs, 1992; Honkavaara et al., 2002; Schaefer et al., 2007; Rajchard, 2009), pelo que estas bagas devem apresentar alguma cor para esses animais. Estas propriedades podem ter relevância nas formas de dispersão, ou servir também como fator foto-protetor das sementes (Diaz-Barradas et al. 2016). Estas propriedades óticas podem ter também um aproveitamento comercial, podendo eventualmente ser utilizadas para a preparação de cremes naturais com capacidade foto-protetora.

Por todas estas propriedades e pela sua relevância histórica (as bagas da camarinha seriam as lágrimas da rainha Santa Isabel) é muito importante desenvolver

uma técnica de domesticação desta espécie que poderia ser obtida por reprodução vegetativa. Até à data os resultados não foram muito bons, mas a introdução das estacas num ambiente mais húmido aumentou a taxa de enraizamento, de 5 para 20%, (Figura 2). Uma vez que as estacas enraízam e passam-se para vasos com solo a probabilidade de sobrevivência é muito elevada. A vantagem desta técnica é que ao cabo de dois anos já se obtêm plantas de 50 cm de altura que podem ser plantadas no campo. No futuro pretendemos trabalhar novas técnicas de reprodução vegetativa, nomeadamente reprodução *in vitro*, para conseguir desenvolver culturas desta espécie tão valiosa a nível ecológico e potencialmente económico para as populações costeiras.

### Conclusões

As bagas brancas da camarinha possuem uma elevada refletância no UV, propriedade que terá um papel importante na dispersão dos frutos ou ainda como fotoprotetor das sementes no ambiente dunar. Estas propriedades poderão ser utilizadas para a fabricação de cremes na indústria de plantas naturais e podem contribuir para o desenvolvimento económico das zonas costeiras. Para que tal seja possível é necessário desenvolver um sistema eficaz de domesticação da camarinha, propondo-se o sistema de reprodução vegetativa por estaca pois oferece as vantagens de escolher o ‘sex-ratio’ ao ser uma planta dioica e de obter plantas produtivas num espaço de tempo mais curto que a multiplicação por via seminal.

### Agradecimentos

A colaboração do serviço geral de viveiros da Universidade de Sevilha foi muito importante para a realização deste trabalho. Os autores também querem agradecer o trabalho dos alunos Alberto García, Carlos Pérez e Lariana Loffler.

### Referências

- Alvarez-Cansino, L., Zunzunegui, M., Díaz-Barradas, M.C., Correia O & Esquivias, M.P. 2013. Effects of temperature and rainfall variation on population structure and sexual dimorphism across the geographical range of a dioecious species *Population Ecology* 55:135–146.
- Bras de Oliveira, P. & Dale, A. 2012. *Corema album* (L.) D. Don, the white crowberry – a new crop. *Journal of Berry Research* 2: 123-133.
- Díaz-Barradas, M.C., Costa, C., Correia, O., León-González, A.J., Navarro-Zafra, I., Zunzunegui, M., Alvarez-Cansino, L. & Martín-Cordero, C. 2016. Pentacyclic triterpenes responsible for photoprotection of *Corema album* (L.) D. Don white berries. *Biochemical Systematics and Ecology*, doi 10.1016/j.bse.2016.05.009.
- Gil-López, M.J. 2011. Etnobotánica de la camarina (*Corema album*, Empetraceae) en Cádiz. *Acta Botanica Malacitana* 36: 137-144.
- Honkavaara, J., Koivula, M., Korpimäki, E., Siltari, H. & Vitala J. 2002. Ultraviolet vision and foraging in terrestrial vertebrates. *Oikos* 98: 505-511.
- Jacobs, G.H. 1992. UV vision in vertebrates. *Am Zool* 32: 544 – 554.
- Larriaga, A. & Guitián, P. 2016. Intraspecific variation in fruit size and shape in *Corema album* (Ericaceae) along a Latitudinal gradient: from fruits to population. *Biological Journal of Linnean Society* 118.
- León González, A., Truchado, P., Barberá, T., López-Lázaro, M., Díaz-Barradas, M.C., Martín-Cordero, C. 2013. Phenolic acids, flavonols and anthocyanins in *Corema album* (L.) D. Don berries. *Journal of Food Composition and Analysis* 29: 58–63.

- Rajchard, J. 2009. Ultraviolet (UV) light perception by birds: a review. *Veterinari Medicina* 54: 351-359.
- Rascher, K.G., Hellmann, C., Máguas, C. & Werner, C. 2012. Community scale 15N isoscapes: tracing the spatial impact of an exotic N<sub>2</sub>-fixing invader. *Ecology Letters* 15(5): 484-491.
- Schaefer, H.M. & Schaefer, V. 2007. The evolution of visual fruit signals: concepts and constraints. In: Dennis AJ, Schupp EW, Green RJ, Wescott DA (eds.). *Seed Dispersal: Theory and its Application in a Changing World*. CABI, Wallingford, UK, pp. 59-77
- Zunzunegui, M., Díaz-Barradas, M.C., Clavijo, A., Alvarez-Cansino, L., Ain Lhout, F. & García Novo, F. 2006. Ecophysiology, growth timing and reproductive effort of three sexual forms of *Corema album*. *Plant Ecology* 183:35-46.

## Figuras

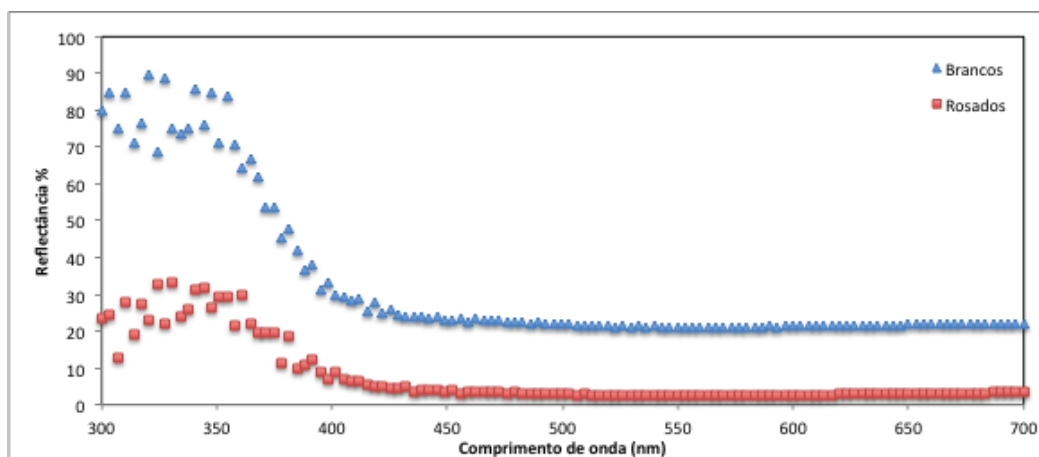


Figura 1. Espectros de refletância das bagas (brancas e rosadas) da camarinha, o comprimento de onda das medidas abrangem desde 300 a 700 nm.

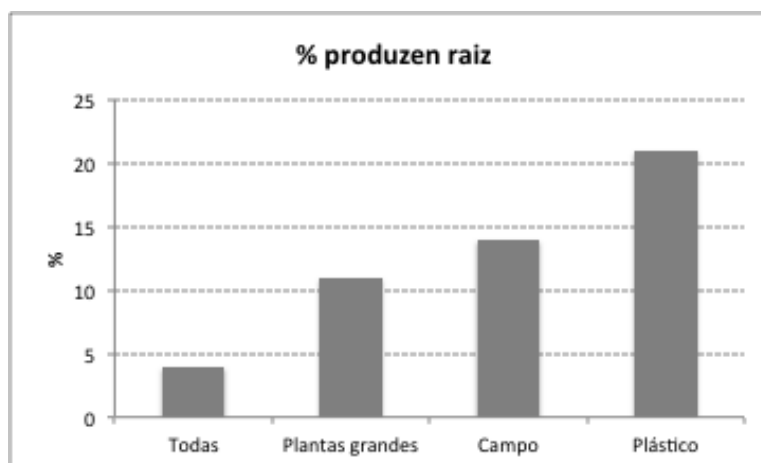


Figura 2. Percentagem das estacas plantadas que produziram raízes num período de 4 a 7 meses após plantação.

Todas: significa estacas cortadas de plantas aleatoriamente.

Plantas grandes: estacas cortadas exclusivamente de plantas adultas bem desenvolvidas.

Campo: estacas plantadas diretamente no campo.

Plástico: estacas plantadas em viveiro e cobertas para aumentar a humidade relativa.