

# **Dependencia a la polinización entomófila y relevamiento de los insectos polinizadores en tres cultivos de interés económico para Uruguay.**

Tesis de Maestría en Biología

Opción Zoología

Programa de Desarrollo en Ciencias Básicas

**(PEDECIBA)**

Lic. Estela Santos Martínez

Director: Dr. Enrique Morelli. Sección Entomología

Co-director: Dr. Ciro Invernizzi. Sección Etología

Tribunal de evaluación y aprobación:

Dra Carmen Viera (Presidenta), Dr. Gabriel Francescoli, Dra Patricia González

**UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Montevideo, 2014**

## **Agradecimientos**

A mi esposo e hijos por su innumerable paciencia, apoyo y compañía en toda la carrera.

A mis padres por brindarme la posibilidad de estudiar esta carrera y acompañarme en este proceso. Especialmente a mi madre por enseñarme el camino de las abejas, el camino de hija, esposa y madre.

A mis hermanas y hermanos, suegros, cuñadas, cuñados y sobrinos que se encargaron de mis hijos durante estos estudios, mil millones de veces.

A Yamandú Mendoza por su incondicional apoyo, orientación y oportunidad de desarrollo personal y en equipo, durante la realización de estos y otros estudios.

A Ciro Invernizzi por su orientación, apoyo, sugerencias, paciencia, exigencias y amistad en la presentación de los resultados de este trabajo.

A Enrique Morelli por aceptar mi maestría y orientarme en el proceso.

A Máximo Vera y Sebastián Díaz Cetti por su compañía, trabajo conjunto, dedicación y amistad, durante los seguimientos de campo y análisis de laboratorio.

A mis compañeras de cancha Sheena y Natalia por su compañía y por escucharme tantas veces, por sugerirme y bancarme.

A mis amigas Erica y Virginia por esperar tanto estos resultados de investigación, por sus consejos, compañía y distracción.

A Gloria Daners por iniciarme en el estudio de las abejas nativas y mostrarme el maravilloso mundo de estos insectos y del polen que consumen.

A quienes proporcionaron las chacras comerciales para realizar los estudios, INIA Las Brujas, Flia Pissano, Facultad de Agronomía y familias de Soriano.

A Roberto Zopolo, Danilo Cabrera, Beatriz Vignale y Pamela Lombardo, por su disposición ante estos estudios y apoyar con los cultivos estudiados.

Al tribunal, Carmen Viera, Gabriel Francescoli y Patricia Rodríguez por su lectura, sus valiosas correcciones y aportes que enriquecieron y mejoraron la presentación del mismo.

Y a Dios que envuelve todas estas cosas y me ha iluminado siempre el camino para que las cosas hechas con mucho esfuerzo salieran adelante.

## RESUMEN

La polinización es el transporte de polen desde estructuras masculinas a las femeninas de la flor. Los polinizadores se encargan de acarrear el polen de una flor a otra, para asegurar la fecundación cruzada de los óvulos que las flores poseen, con la consiguiente formación de semillas, frutos y mantenimiento de la diversidad vegetal y animal. Cerca del 90 % de las plantas con flor son polinizadas por animales, especialmente por insectos. Las abejas son los más especializados en cuanto a morfología y comportamiento en la colecta de polen y/o néctar, por lo que son los polinizadores más efectivos. El ser humano depende directa o indirectamente de este proceso para la producción de gran parte de sus alimentos, medicinas y vestimenta. Existe comprobación de una creciente pérdida de poblaciones de polinizadores y la inquietud en la granja de nuestro país por conocer a los polinizadores de los cultivos. El objetivo del presente estudio fue obtener registro de los insectos participantes en la polinización de tres cultivos de interés económico y determinar la dependencia de estos a la polinización entomófila para fructificar. Los cultivos implicados son: *Glycine max* (soja): Fabaceae, *Malus domestica* (manzano): Rosaceae. y *Acca sellowiana* (guayabo): Myrtaceae. Elegidos por poseer diferentes características agronómicas, requerimientos de fecundación y por ser importantes cultivos implantados en la granja de Uruguay. Para determinar la dependencia de estos cultivos, se han excluido de polinizadores, mediante mallas partes de los cultivos, dejando áreas con libre polinización para comparar los resultados mediante test de Chi<sup>2</sup> y ANOVA. Para realizar el relevamiento de insectos sobre las flores, se eligieron al azar transectas en los cultivos, y se recorrieron en cuatro momentos del día, una vez por semana, durante todo el período de floración. Se determinaron además algunas particularidades para cada cultivo como: 1) comportamiento de abordaje a la flor por la abeja *A. mellifera* en la flor del manzano,; 2) presencia de aves polinizadoras en el cultivo de guayabos y 3) aportes nutricionales que la soja hace a las abejas melíferas. Como resultado general se ha encontrado que todos los cultivos dependen de la polinización entomófila. Siendo el cultivo de manzanos 100% y el cultivo de guayabos entre un 50 y 90% dependiente. Y la soja puede fructificar sin polinizadores en el ambiente dada su condición de autogamia, pero con insectos polinizando la producción de semillas puede incrementarse hasta en un 10%. Se registró un total de 35 especies con capacidad polinizadora en los tres cultivos, siendo el orden Hymenoptera el más abundante y rico en especies (13 spp.). De los grupos de insectos polinizando los diferentes cultivos, se destacó que la abeja *A. mellifera* estuvo presente en todos ellos, colectando polen y néctar, condición esperable dada la actividad apícola que se realiza en abundancia en todo nuestro territorio con más de 500.000 colmenas emplazadas. De los estudios complementarios realizados para cada cultivo se destacan los siguientes resultados: 1) La abeja *A. mellifera* fue el único insecto polinizando el cultivo de manzanos y es capaz de abordar la flor del manzano por encima (efectiva polinización) o por el costado (no poliniza). Determinándose que las colectoras de polen son más efectivas polinizadoras y más constantes en su comportamiento de abordaje. 2) Tres especies de aves tienen actividad polinizadora sobre los cultivos de guayabos 3) La soja aporta néctar y polen (con 28% de proteína cruda) a los insectos polinizadores. Con los resultados obtenidos se pueden establecer pautas de manejo con los insectos relevantes encontrados, dado que se carecía de esta información hasta el momento en los cultivos de interés comercial estudiados. De este modo se aportan datos al rubro granjero, para poder mejorar el rendimiento y calidad de sus cultivos, mediante una consideración apropiada de los insectos polinizadores que hay en el ambiente o que pueden manejarse por el hombre como lo es la abeja melífera.

## ABSTRACT

Pollination is the transport pollen from male to female flower structures. Pollinators are responsible for carry pollen from one flower to another, to ensure cross- eggs that have flowers, with consequent formation of seeds, fruits and maintenance of plant and animal diversity. About 90% of flowering plants are pollinated by animals, especially insects. Bees are the most specialized in morphology and behavior in collecting pollen and / or nectar, so they are the most effective pollinators. Human depend directly or indirectly from this process for the production of much of their food, medicine and clothing. There is evidence of an increasing loss of pollinator populations and unrest in our country farm known pollinators of crops. The aim of this study was to determinate the isect participant in pollinating of three crops of economic interest and determine the dependence of these on insect pollination for fruit set. The crops involved are: *Glycine max* (soybean) : Fabaceae , *Malus domestica* (apple) : Rosaceae and *Acca sellowiana* (guava): Myrtaceae . Chosen by having different agronomic characteristics, fertilization requirements and important crops being planted on the farm in Uruguay. To determine the dependence of these crops have been excluded from pollinators through mesh parts of crops, leaving areas open pollinated to compare the results using Chi<sup>2</sup> test and ANOVA. To perform the survey of insects on the flowers, transects were chosen randomly in crops, and toured four times a day, once a week throughout the flowering period. Some particularities for each crop were also determined as: 1) behavioral approach to the flower by the bee *A. mellifera* in the apple blossom, 2) presence of pollinating birds in growing guava and 3) nutritional contributions that soy makes honeybees. As a result, it was found that all crops rely on insect pollination. Apple cultivation being 100% dependent, and guava cultivation between 50 and 90 % dependent. And soy can bear fruit without pollinators in the environment because of their status selfing , but insects pollinating seed production can be increased by up to 10 % . A total of 35 species with pollination ability in all three cultures were recorded, with the Hymenoptera order the most abundant and species-rich (13 spp.). Groups of insects pollinating various crops , it was noted that the bee *A. mellifera* was present in all of them , collecting pollen and nectar expected given condition beekeeping carried out in abundance throughout our territory with over 500,000 hives emplaced . In complementary studies for each crop are the following results: 1) The bee *A. mellifera* was the only insect pollinating apple growing and is capable of addressing the apple blossom above (effective pollination) or the side (not pollinated). Determining that the collecting pollen are more effective pollinators and more consistent in their approach behavior. 2) Three species of birds have pollination of crops guava, 3) Soy provides nectar and pollen (28 % crude protein) pollinating insects. With the results can be established management guidelines with relevant insects found, since this information was lacking so far studied in cultured commercial interests. This data provide the farmer category, in order to improve the yield and quality of crops through appropriate consideration of pollinating insects in the environment or that can be handled by man as it is the honeybee.

## LISTA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE CONTENIDO .....	v
LISTA DE TABLAS.....	x
LISTA DE FIGURAS .....	xi

### CAPITULO 1 INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 La polinización entomófila.....	1
1.2 Las abejas como polinizadores especializados.....	2
1.3 El polen como recurso alimenticio.....	4
1.4 Reducción de las poblaciones de insectos polinizadores.....	5
1.5 Insectos polinizadores en Uruguay.....	6
1.6 La apicultura en Uruguay.....	7
1.7 Propósito del estudio y elección de cultivos.....	8
1.7.1 Hipótesis.....	11
1.7.2 Objetivo general.....	11
1.7.3 Objetivos específicos.....	11

### CAPITULO 2 - DEPENDENCIA A LA POLINIZACION ENTOMOFILA Y RELEVAMIENTO DE LOS INSECTOS POLINIZADORES EN SOJA

*Glycine max* (L.) Merrill: FABACEAE

2.1 INTRODUCCIÓN.....	12
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
2.2.1 Descripción del área de estudio .....	14
2.2.2 Frecuencia de visitas a los cultivos.....	15

2.2.3 Evolución de la floración.....	15
2.2.4 Dependencia del cultivo a la polinización entomófila.....	15
2.2.5 Relevamiento de los insectos polinizadores.....	17
2.2.6 Estimación del cuajado de los frutos .....	18
2.2.7 Recursos de néctar y polen utilizados por las colmenas.....	18
2.2.7.1 Origen botánico del polen colectado por las abejas. ....	18
2.2.7.2 Determinación del contenido de proteína cruda del polen de soja.....	19
2.2.7.3 Origen botánico del néctar colectado por las abejas.....	19
2.2.7.4 Producción de miel. ....	19
2.2.8 Análisis del suelo.....	20
2.2.9 Tratamiento de los datos.....	20

## **2.3 RESULTADOS**

2.3.1 Evolución de la floración .....	21
2.3.2 Dependencia de la soja a la polinización por entomófila.....	21
2.3.3 Análisis de suelo.....	23
2.3.4 Relevamiento de insectos polinizadores .....	24
2.3.5 Recursos de néctar y polen utilizados por las colmenas.....	27

## **2.4 DISCUSIÓN**

2.4.1 Evolución de la floración.....	31
2.4.2 Dependencia de la soja a la polinización entomófila.....	31
2.4.3 Análisis de suelo.....	33
2.4.4 Relevamiento de insectos polinizadores.....	33
2.4.5 Recursos de néctar y polen utilizados por las colmenas.....	34

<b>2. 5 CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS</b> .....	36
 <b>CAPITULO 3 DEPENDENCIA A LA POLINIZACION ENTOMOFILA Y RELEVAMIENTO DE LOS INSECTOS POLINIZADORES EN MANZANOS <i>Malus domestica</i> (L.) Borkh: ROSACEAE</b>	
<b>3.1 INTRODUCCIÓN</b> .....	38
<b>3.2 MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
3.2.1 Descripción del área de estudio.....	41
3.2.2 Frecuencia de visitas a los cultivos .....	43
3.2.3 Evolución de la floración.....	43
3.2.4 Dependencia del cultivo a la polinización entomófila.....	43
3.2.5 Relevamiento de insectos polinizadores en los cultivos .....	46
3.2.6 Estimación de cuajado de los frutos.....	46
3.2.7 Comportamiento de pecoreo de <i>A. mellifera</i> en el manzano.....	46
3.2.8 Tratamiento de los datos.....	47
 <b>3.3 RESULTADOS</b>	
3.3.1 Evolución de floración.....	48
3.3. 2 Dependencia del manzano a la polinización entomófila .....	49
3.3.3 Relevamiento de insectos polinizadores en los cultivos.....	51
3.3.3.1 Distribución de las abejas durante el periodo de floración de los manzanos.....	51
3.3.4 Comportamiento de pecoreo de <i>A. mellifera</i> en el manzano.....	52
 <b>3.4 DISCUSIÓN</b>	
3.4.1 Evolución de floración.....	58
3.4.2 Dependencia del manzano a la polinización entomófila .....	59
3.4.3 Relevamiento de insectos polinizadores en los cultivos.....	59
3.4.3.1 Distribución de las abejas durante el periodo	

de floración de los manzanos.....	60
3.4.4 Comportamiento de pecoreo de <i>A. mellifera</i> en el manzano.....	60

### 3.5 CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....64

## **CAPITULO 4 DEPENDENCIA A LA POLINIZACION ENTOMOFILA Y RELEVAMIENTO DE LOS INSECTOS POLINIZADORES EN GUAYABOS *Acca sellowiana* (Berg.) Burret: MYRTACEAE**

### 4.1 INTRODUCCIÓN.....66

#### 4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1 Descripción del área de estudio.....	69
4.2.2 Frecuencia de visitas a los cultivos .....	71
4.2.3 Evolución de la floración.....	71
4.2.4 Dependencia del cultivo a la polinización entomófila.....	72
4.2.5 Relevamiento de insectos polinizadores.....	74
4.2.5.1 Observación complementaria, Avistamiento de aves.....	77
4.2.6 Estimación del porcentaje de cuajado de los frutos.....	77
4.2.7 Tratamiento de los datos.....	78

#### 4.3 RESULTADOS

4.3.1 Evolución de la floración.....	78
4.3.2 Dependencia de los guayabos a la polinización entomófila.....	79
4.3.3 Relevamiento de insectos polinizadores.....	81
4.3.3.1 Observación complementaria, Avistamiento de aves.....	89
4.3.4 Posición de insectos sobre las flores.....	89

<b>4.4 DISCUSIÓN</b>	
4.4.1 Evolución de la floración.....	92
4.4.2 Dependencia de los guayabos a la polinización entomófila.....	93
4.4.3 Relevamiento de insectos polinizadores.....	95
4.4.3.1. Observación complementaria, Avistamiento de aves.....	97
<b>4.5 CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....</b>	<b>98</b>
<b>CAPITULO 5 DISCUSIÓN GENERAL.....</b>	<b>100</b>
<b>CAPITULO 6 BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>102</b>

## LISTA DE TABLAS

### Capítulo 2

**Tabla I.** Clasificación de los insectos observados visitando las flores de soja.....24

**Tabla II.** Origen botánico de las mieles producidas por las diferentes colmenas.....31

### Capítulo 3

**Tabla I.** Porcentaje de cuajado de los frutos con y sin exclusión de insectos en los cultivos de manzanos Estaciones 1 y 2.....49

### Capítulo 4

**Tabla I.** Lugares y tipos de tratamientos realizados para determinar dependencia de las plantas a la polinización entomófila.....74

**Tabla II.** Resumen de frecuencias de visitas a las estaciones.....76

**Tabla III.** Porcentaje de cuajado de frutos en los árboles experimentales de guayabo..80

**Tabla IV.** Grupos de insectos, abundancia y ubicación sobre las flores en Estación 1, en el año (2009).....82

**Tabla V.** Grupos de insectos, abundancia y ubicación en las flores en Estación 2 (2009).....83

**Tabla VI.** Grupos de insectos, abundancia y ubicación en las flores en la Estación 2 (2010). También se incluyen las aves observadas.....85

**Tabla VII.** Grupos de insectos, abundancia y ubicación en las flores en Estación 4 (2010). También se incluyen las aves observadas.....86

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 2

- Figura 1** – A) Diagrama de áreas con tratamientos de polinización libre y excluida B) Coberturas de 3x4x1 m evitando entrada de insectos con actividad polinizadora.....16
- Figura 2.** Fruto de la *G. max* (soja) con óvulos fecundados y no fecundados.....18
- Figura 3** – Evolución de la floración del cultivo de soja en Soriano (2009).....21
- Figura 4.** Producción de semillas por planta en las parcelas con presencia y ausencia de polinizadores, a 200 y 500 metros del apiario.....22
- Figura 5.** Profundidad del suelo a 200 m (izquierda) y 500 m (derecha) del apiario....23
- Figura 6.** Proporción de los diferentes grupos de insectos que visitaron las flores de soja los días 26 de enero (A) y 9 de febrero (B).....25
- Figura 7.** Presencia de abejas melíferas a diferentes distancias del apiario.....26
- Figura 8.** Recurso colectado por las abejas melíferas el día 26 de enero.....27
- Figura 9A.** Origen botánico de los diferentes pólenes que ingresaron a las colmenas el 26 de enero durante la mañana (1) y la tarde (2).....28
- Figura 9B.** Origen botánico de los diferentes pólenes que ingresaron a las colmenas el 9 de febrero durante la mañana (1) y la tarde (2).....29

### Capítulo 3

- Figura 1.** Ubicación de los cultivos de manzano Red Chief en Estación 2 (A y C) y Cripps Pink en Estación 1 (B y D).....42
- Figura 2.** Flores de manzano cubiertas por una malla para excluir a los insectos polinizadores (A) y flores donde los insectos tienen libre acceso a las flores (B).....45
- Figura 3.** Evolución de la floración en la Estación 1(Cripps Pink) y Estación 2 (Red Chief).....48

<b>Figura 4.</b> Evolución de las flores de manzano en las ramas con exclusión de insectos.....	48
<b>Figura 5.</b> Evolución temporal de las flores de manzano en las ramas con libre acceso de insectos polinizadores. 1-antesis, 2 y 3 flores apétalas y con engrosamiento de ovarios, 4 frutos en desarrollo.....	50
<b>Figura 6.</b> Abundancia de abejas melíferas observada en diferentes fechas y horarios en la Estación 1(A) y Estación 2 (B).1.....	52
<b>Figura 7.</b> Número de abejas que colectaron polen, néctar y néctar+polen durante la mañana y a tarde en las flores de manzano de Estación 1.....	53
<b>Figura 8.</b> Número de abejas que colectaron polen, néctar y néctar+polen durante la mañana y la tarde en las flores de manzano de la Estación 2.....	53
<b>Figura 9.</b> Número de flores que fueron abordadas por arriba o por el costado por abejas que cargaban polen, néctar+polen y néctar en los manzanos de la Estación 1.....	54
<b>Figura 10.</b> Número de flores que fueron abordadas por arriba o por el costado por abejas que cargaban polen, néctar + polen y néctar en los manzanos de la Estación 2...55	55
<b>Figura 11.</b> Abejas posadas sobre la flor del manzano. A) Abeja abordando la flor desde arriba tomando contacto con las anteras. Derecha; abeja abordando la flor desde el costado apoyada en los pétalos.....	55
<b>Figura 12.</b> Número de abejas que durante su vuelo de pecoreo abordan las flores de una sola forma (por arriba o por el costado) o cambiando de una a otra cuando colectan polen, néctar y néctar+polen en las flores de las Estaciones 1y 2.....	56
<b>Figura 13.</b> Número de abejas que durante su vuelo de pecoreo abordan las flores de una sola forma (por arriba o por el costado) o cambiando de una a otra cuando colectar polen, néctar y néctar+polen en las flores de las Estaciones 1 y 2.....	57
<b>Figura 14.</b> Frecuencia de transiciones entre las formas de abordar las flores (por arriba o por el costado) en abejas que realizaron vuelos no constantes cuando colectaban polen, néctar y néctar+polen, en los manzanos de las Estaciones 1 y 2.....	58

## Capítulo 4

- Figura 1.** Plantaciones de guayabos utilizadas en los estudios del año 2009. A) Estación Experimental de la Facultad de Agronomía-Salto (Estación 1). B) INIA Las Brujas – Canelones (Estación 2).....70
- Figura 2.** Estadios fenológicos de la flor del guayabo. Tomado de Ducroquet & Hickel (1991). .....72
- Figura 3.** A) ramas con flores encerradas con una malla para excluir a los polinizadores. B) ramas con flores con libre acceso de polinizadores.....73
- Figura 4.** Una Flor en el estadio F2 Delante y una Flor en el estadio F3 detrás. ....75
- Figura 5.** A) Registro de insectos asociados a las flores. B) Captura de insectos con red entomológica. C) Clasificación de los insectos capturados en el laboratorio. D) Observación de aves interaccionando con las flores.....77
- Figura 6** – Evolución de la floración en los cultivos de guayabos de la Estación 1(Salto) y de la Estación 2 (Canelones) durante el año 2009.....78
- Figura 7.** Evolución de la floración en los cultivos de la Estación 2 y en los árboles de la Estación 4 durante el año 2010.....79
- Figura 8.** Frutos formados con libre polinización y frutos formados sin acción de los polinizadores. Foto cedida por gentileza de Pamela Lombardo y Beatriz Vignale.....81
- Figura 9.** A) Avispa del genero *Sphex* alimentándose de los pétalos, B) y C) Dípteros asociados esperando para libar de las heridas de los pétalos y D) Dípteros sobre las estructuras reproductivas de las flores.....84
- Figura 10A.** Abundancia de insectos en contacto con las estructuras florales y asociados a ellas, en las estaciones 1 y 2.....88
- Figura 10B.** Abundancia de insectos en contacto con las estructuras florales y asociados a ellas, en las estaciones 2 y 4.....89

**Figura 11.** A) Zorzal (*Turdus rufiventris*) y B) Naranjero (*Thraupis bonariensis*)  
alimentándose de los pétalos de flores de guayabos.....91

**Figura 12.** Pétalos sanos y pétalos destruidos por la alimentación de las aves.....92

# CAPITULO 1

## INTRODUCCIÓN GENERAL

### 1.1 La polinización entomófila

Cuando surgen las plantas con flor sobre la tierra surgen con ellas los agentes polinizadores que acarrean el polen de una flor a otra asegurando la fertilización, producción de frutos y semillas (Graham, 1993).

Se hallan en discusión los orígenes de la polinización biótica, pero es muy aceptado que comenzó a partir de la dispersión de esporas por parte de algunos insectos. Los insectos que se alimentaban de las estructuras reproductivas de los helechos o colas de caballo eran vectores de transporte de esporas de un lugar a otro. Cuando evolucionaron las plantas con flor, estos animales comienzan a depredarlas consumiendo el polen de las mismas, y así se transforman en los vectores de granos de polen desde una flor hacia otra. De este modo, una relación casual herbívora y la consiguiente adaptación comportamental de los artrópodos para moverse entre estructuras reproductivas similares, son los inicios de la polinización de las plantas con flor (Ollerton, 1999).

Existe evidencia paleontológica que demuestra incluso una co-evolución entre las plantas con flor y determinados grupos de animales. La diversificación de algunos grupos de insectos polinizadores, como dípteros, coleópteros, lepidópteros e himenópteros, se ha dado al mismo tiempo que la diversificación de las plantas con flor (Labandeira & Sepkoski, 1993). De estos grupos de insectos, el orden Hymenoptera es

el que muestra una mayor co-evolución con las plantas con flor, sugiriendo la gran dependencia de estas plantas de la polinización por abejas (Michener, 1974; Ollerton, 1999).

Se estima que cerca del 90% de las plantas con flor son polinizadas por animales (Kearns *et al.*, 1998), asegurando la polinización cruzada entre organismos de la misma especie, que tiene como consecuencia la generación de variabilidad genética. La mayor parte de estos animales corresponde a insectos, que encuentran en las flores el alimento (polen y néctar) o material de construcción (ceras y aceites) para subsistir en la naturaleza (Ollerton, 1999). En este sentido, las flores poseen coloraciones características con señales para atraer a los polinizadores, al mismo tiempo que ofrecen néctar, polen y ceras como recompensa para asegurar su visita (Borges *et al.*, 2003)

Las diferentes especies de abejas (Hymenoptera: Apoidea) son los insectos polinizadores más especializados (Michener, 1974). De todos modos, otros insectos que participan en la polinización de algunos cultivos pertenecen a los órdenes Diptera, Coleoptera, Thysanoptera y Lepidoptera aunque no son tan importantes como las abejas acarreado polen (Viejo y Ornos, 1997).

## **1.2 Las abejas como polinizadores especializados**

Dentro de los insectos se considera a las abejas como los polinizadores por excelencia, dados los requerimientos alimenticios de todas las especies y las necesidades de construcción de nidos de unas pocas especies (colectoras de aceites, resinas y ceras) (Michener 1974; Bosch *et al.*, 1992; Dukas & Real, 1993; Ollerton, 1999). Las abejas poseen un estado larval con un requerimiento de alimento que es satisfecho por una gran cantidad de polen y néctar que las abejas adultas acarrearán hacia el nido (Michener, 1974). Las obreras visitan un gran número de flores para conseguir el alimento de las

crías, participando activamente en la polinización. Mientras que el néctar es el alimento energético de las abejas, el polen es un componente proteico en la alimentación de las larvas y también un elemento importante en la dieta de las abejas adultas jóvenes. (Michener, 1974; Jean-Prost, 1995; Keller *et al.*, 2005). Para extraer el polen, las abejas frotan su cuerpo sobre las anteras u otras partes de la flor, o pueden incluso utilizar sus piezas bucales para destruir las anteras y removerlo. Dependiendo de la especie de abeja, el polen es transportado hacia el nido en diferentes partes corporales: tibias traseras, coxas traseras y medias o en el abdomen (Michener, 2007). Otra forma de acarrear el polen, es indirectamente, en el cuerpo vellosos de la abeja, cuando ésta colecta néctar de las flores y toca las anteras con su cuerpo (Michener, 1974; Root, 1976; Roubik, 1992). En cada viaje de colecta de polen o néctar las abejas visitan preferentemente una sola especie vegetal (Free, 1963), siendo este comportamiento fundamental para ser consideradas como vector polinizador.

Existen unas 20.000 especies de abejas en todo el mundo que participan en la polinización de la vegetación natural y cultivos. La mayoría de las especies de abejas son solitarias, donde adquieren especial importancia las hembras, ya que son las involucradas en la construcción del nido, colecta de recursos poliníferos y puesta y cuidado de unos pocos huevos. Solo unas pocas especies de abejas son sociales, formando nidos con decenas o miles de individuos, dependiendo de la especie (Michener, 2007). Éstas poseen actividad diurna de colecta de polen y néctar, dado que las plantas segregan néctar con las altas temperaturas del día y además las abejas no poseen adaptación visual nocturna. (Winston, 1987).

La abeja melífera (*Apis mellifera*) oriunda de Europa, es la especie más abundante y fácilmente manejable por el ser humano, y participa en mayor medida en la polinización de diversos cultivos. Varias son las características de esta especie de abeja

que hacen que sea el polinizador por excelencia. La colonia posee un ciclo de vida anual, por lo que hay ejemplares durante todo el año para trabajar en la diversidad de flora natural y cultivos implantados por el ser humano. Además, estas abejas viven en casi todos los ambientes del planeta soportando temperaturas variables y pecoreando sobre una gran diversidad de especies vegetales (Winston, 1987; Jean-Prost, 1995). El hecho de que sean buenas productoras de miel, polen, ceras y propóleos, las hace apreciadas por el hombre, quien las cuida y mantiene en colmenas artificiales. Estas colmenas pueden ser movilizadas para polinizar cultivos, asegurando una buena producción de frutos y semillas (De la Cuadra, 1992; Lopez & Sotomayor, 1992; Westwood, 1982), sobre todo en aquellos que no son nativos del país donde se cultivan.

### **1.3 El polen como recurso alimenticio**

Mientras que el néctar es el alimento energético para los insectos, constituido básicamente por carbohidratos, el polen aporta proteínas, lípidos, azúcares, sales minerales, fibras, enzimas, vitaminas y hormonas para desarrollar sus estructuras corporales. Esto ha sido estudiado especialmente en los ápidos que son quienes consumen polen y néctar específicamente (Keller *et al.*, 2005).

En la elección de los recursos alimenticios a explotar por los ápidos (poliníferos y/o nectaríferos) inciden varios factores: 1) cantidad, concentración y composición del néctar, 2) momento del día en que la flor ofrece el néctar y el polen, 3) morfología floral (que determinan la accesibilidad al néctar y al polen), 4) distancia del recurso respecto a la colmena, 5) condiciones climáticas durante el vuelo y las características morfológicas de las abejas (Michener, 1974; Seeley, 1995).

En cada salida para colectar polen, las abejas presentan una elevada constancia floral (Free, 1963), determinando que la carga polínica tenga una coloración uniforme al

contener granos de polen de un mismo origen botánico. Mediante el análisis palinológico del polen colectado por las abejas se puede determinar los recursos poliníferos explotados por las diferentes colonias (Erdtman, 1966; Talpay, 1978).

Otros insectos como los coleópteros, dípteros, lepidópteros y tisanópteros consumen polen y néctar de las flores pero lo hacen de forma ocasional, se alimentan recorriendo unas pocas flores y no acumulan reservas como lo hacen los ápidos (Ollerton, 1999).

#### **1.4 Reducción de las poblaciones de insectos polinizadores**

La pérdida creciente de polinizadores (conocida como “crisis de polinizadores”) ha generado una enorme preocupación a nivel mundial por las consecuencias económicas y ambientales que acarrearía (Biesmeijer *et al.*, 2006; Klein *et al.*, 2007; Aizen *et al.*, 2009). Klein *et al.* (2007) encontraron que de una lista de 108 cultivos, en 92 hay evidencia empírica de incremento de la producción debido a la acción de distintos polinizadores. Gallai *et al.* (2009) cuantificaron el beneficio económico dejado por los polinizadores en el año 2005, adjudicándole a la polinización un valor de €153.000.000.000 lo que representó el 9,5% del valor total de la producción agrícola de ese año. Ghazoul (2005) plantea que si bien alimentos básicos como el trigo y el arroz no dependen de la polinización entomófila, la alimentación de los humanos se vería seriamente perjudicada si las poblaciones de insectos polinizadores son afectadas. Desde una perspectiva conservacionista Biesmeijer *et al.* (2006) demostraron que la pérdida de especies polinizadoras en Europa a lo largo del siglo pasado fue acompañada por la extinción de especies botánicas que dependían fuertemente de la polinización de estos polinizadores.

## 1.5 Insectos polinizadores en Uruguay

En Uruguay, las especies de abejas nativas no han sido relevadas exhaustivamente, por lo que hay muy poca información. Desde el año 2007 la autora de esta tesis ha estado recolectando e identificando abejas nativas, reconociendo un total de 53 especies de las cuales cuatro son sociales (*Bombus atratus*, *Bombus bellicosus*, *Plebeya* sp. y *Melipona* sp.) y 49 solitarias (Santos & Daners 2010).

Por otro lado, se ha realizado un relevamiento de las abejas del género *Augochlora* en la región, registrando cinco especies presentes en nuestro país. (Dalmazzo & Roig-Alsina., 2011).

Un grupo de abejas sociales nativas que ha sido muy estudiado en los últimos años es el de los abejorros del género *Bombus* (Varela & Rebuffo, 1999; Arbulo *et al.*, 2011; Salvarrey *et al.*, 2013a; Salvarrey *et al.*, 2013b, Santos *et al.*, 2013). En Uruguay se encuentran presentes dos especies, *B. atratus* y *B. bellicosus* estando la primera distribuida en todo el país y la segunda al sur del río Negro (Santos *et al.*, 2013). La capacidad de los abejorros para polinizar trébol rojo (*Trifolium pratense*) ha sido confirmada por Varela & Rebuffo (1999) y Salvarrey (2013a). También se ha realizado un estudio comparativo entre *B. atratus* y *B. bellicosus* en la preferencia a explotar las leguminosas forrajeras *Lotus corniculatus* y *T. pratense*, encontrándose diferencias que se explicarían por el largo de la probóscide (Arbulo *et al.*, 2011). Recientemente se ha conseguido criar artificialmente abejorros de las dos especies abriendo la posibilidad de utilizarlos en la polinización de diferentes cultivos (Salvarrey *et al.*, 2013b).

En Uruguay, se encuentran presentes las abejas melíferas *A. mellifera*. Fueron introducidas al país desde Francia en 1834 por Bernardino Rivadavia y desde entonces siguieron ingresando en diferentes momentos de diversos lugares de origen para

utilizarlas en la actividad apícola (Cordara 2005). Las abejas melíferas resultan un agente polinizador clave debido al gran número presente en las colonias y a que fácilmente pueden ser llevadas a un cultivo en el momento necesario.

No se han realizado hasta el momento estudios de relevamiento, en busca de otros insectos que puedan estar participando en la polinización de sistemas de cultivos tradicionales o nativos.

## **1.6 La apicultura en Uruguay**

De acuerdo al Registro Nacional de Propietarios de Colmenas en Uruguay existen algo más de 500.000 colmenas manejadas por 2845 productores ubicados en todo el territorio (MGAP, 2012). El principal producto del sector apícola es la miel, produciendo en torno a 12000 toneladas en años sin mayores problemas climáticos. Más del 90% de la miel producida se exporta, generando divisas por cerca de 40 millones de dólares a precios actuales. Así, la miel es el segundo rubro de exportación del sector granjero, detrás de los cítricos.

Los servicios de polinización a diferentes cultivos es un rubro secundario del sector apícola, pero es valorado para asegurar la formación de frutos de diversas plantas cultivadas. Entre los cultivos que suelen ser polinizados por abejas melíferas se destacan trébol rojo (*Trifolium pratense*), trébol blanco (*Trifolium repens*), alfalfa (*Medicago sativa*), girasol (*Helianthus annuus*), colza (*Brassica napus*), manzanos (*Malus domestica*), melón (*Cucumis melo*), zapallos (*Cucurbita maxima*, *Cucurbita pepo* y otros), kiwi (*Actinidia chinensis*), ciruelos (*Prunus domestica*) y duraznos (*Prunus persica*).

El valor de la polinización entomófila en sector granjero en Uruguay fue estimada por Santos *et al.* (2009) en aproximadamente 115 millones de dólares, de los

cuales algo más de 80 millones de dólares corresponderían a la acción polinizadora de las abejas melíferas.

### **1.7 Propósito del estudio y elección de cultivos**

Para estudiar el impacto de la polinización entomófila y conocer a los insectos vectores de polen se escogieron tres cultivos: soja - *Glycine max*, (L.) Merrill: Fabaceae, manzanos - *Malus domestica*, (L.) Borkh.: Rosaceae y guayabos - *Acca sellowiana*, (Berg.) Burret: Myrtaceae.

La soja es uno de los granos más cultivados en el mundo y en Uruguay la superficie destinada a este cultivo es cercana a 1.000.000 ha, con fuerte presencia en los departamentos de Soriano y Río Negro (MGAP, 2012). El incremento del cultivo de soja ha sustituido a otros cultivos de valor nectarífero y polínifero como las leguminosas forrajeras, afectando en gran medida a las colmenas de *Apis mellifera* (Díaz & Raudovínche, 2010). Por otro lado los cultivos de soja suelen recibir diferentes tipos de agroquímicos, como los insecticidas que afectan a las abejas melíferas despoblando las colonias y los herbicidas que disminuyen la oferta floral, tanto en cantidad como en variedad (Devillers *et al.*, 2002), y posiblemente estén afectando también a otros polinizadores presentes en este ambiente productivo.

Aunque la soja es una especie autógama (Carlson & Lester, 2004), existen numerosos reportes de que la producción de semillas puede ser mejorada con insectos polinizadores (Erickson, 1975; Erickson *et al.*, 1978; Abrams *et al.*, 1978; Sim & Choi, 1993; Moreti *et al.*, 1998; Chiari *et al.*, 2005a, 2008; Ortiz-Pérez *et al.*, 2007; Zhao *et al.*, 2009).

En Uruguay no se han realizado estudios sobre el impacto de los polinizadores en la producción de semillas de soja. Con nuestro estudio en abejas melíferas, se abre

una oportunidad para que el sector sojero y apícola se complementen a través de la prestación de servicios de polinización. Por otro lado, el relevamiento de insectos sobre las flores de soja permitirá estimar el grado de impacto que el uso de insecticidas puede tener en la diversidad de los mismos.

Los manzanos, cultivados en todo el mundo, presentan autoincompatibilidad genética por ello la producción de frutos tiene una alta dependencia de la polinización entomófila (DeGrandi-Hoffman *et al.*, 1985; Mayer & Lunden, 1988; Benedek & Nyéki, 1996; Thomson & Goodell, 2001). Se conocen los insectos participantes en la polinización del manzano en otros países, pero no se han realizado relevamientos de éstos en Uruguay. En nuestro país los productores suelen contratar servicios de polinización a los apicultores para asegurar la producción y buena formación de frutos. Sin embargo, se ha observado que cuando las abejas pecorean en las flores de los manzanos pueden posarse en la flor desde arriba, tocando las anteras, o por el costado apoyándose en los pétalos (Mayer & Lunden, 1988; Benedek & Nyéki, 1996; Thomson & Goodell, 2001). La forma de abordar las flores tiene una enorme importancia desde el punto de vista de la polinización ya que las abejas que acceden a las flores por el costado tienen una capacidad muy limitada de remover polen y que éste se deposite en el estigma (Thomson & Goodell, 2001). La forma de abordar la flor depende mucho de la estructura floral, especialmente de la dureza de los estambres, por lo que las abejas varían el comportamiento pecoreador de acuerdo a la variedad de manzana que estén polinizando (Thomson & Goodell, 2001). Ante la dificultad de polinizar algunas variedades de manzanos con abejas melíferas se ha intentado buscar otras especies de polinizadores, como los megachílidos del género *Osmia* (Kuhn & Ambrose, 1984). En Uruguay aún no se ha estudiado el comportamiento de las abejas melíferas durante el

pecoreo en diferentes variedades de manzanos y tampoco se ha relevado la fauna entomológica que visita las flores.

El Guayabo del País es una Mirtácea autóctona que está siendo estudiada en el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) y en la Facultad de Agronomía con el objetivo de encontrar las variedades más adecuadas para la explotación comercial (Vignale & Bisio, 2005; Lombardo *et al.*, 2010; Feippe *et al.*, 2011). Los guayabos presentan autoincompatibilidad y se ha encontrado que la fecundación cruzada asegura una mayor cantidad y calidad de frutos (Patterson, 1990; Finardi *et al.*, 2002; Lombardo *et al.*, 2010). Así, el relevamiento de los insectos capaces de polinizar los guayabos es una información fundamental ante la perspectiva de explotar comercialmente los frutos de estos árboles. A diferencia de la soja y los manzanos, se espera encontrar en los guayabos (una especie autóctona) una importante variedad de insectos actuando como agentes polinizadores.

### 1.7.1 Hipótesis

- 1- Los cultivos de *Malus domestica* (Manzana): Rosaceae, *Acca sellowiana* (Guayabos): Myrtaceae y *Glycine max* (Soja): Fabaceae, dependen en mayor o menor medida de la polinización entomófila para la formación de sus frutos y semillas. Se predice que el cultivo de soja no es altamente dependiente de la polinización entomófila para formar frutos, en contraste con los cultivos de manzanas y guayabos que si dependen fuertemente de las presencia de insectos polinizando.
- 2- La mayor abundancia de insectos polinizadores participando de ese proceso corresponderá a insectos del orden Hymenoptera.

### 1.7.2 Objetivo general

Determinar la dependencia de los cultivos *G. max* (soja), *M. domestica* (manzano) y *A. sellowiana* (guayabos) a la polinización entomófila en Uruguay e identificar los insectos asociados a sus floraciones.

### 1.7.3 Objetivos específicos

- 1- Analizar la dependencia del cultivo de dos variedades de *M. domestica* (manzano), una variedad de *G. max* (soja) y *A. sellowiana* (guayabo) a la polinización entomófila.
- 2- Determinar la evolución de floración de los cultivos y el pico de floración de los mismos.
- 3- Analizar la diversidad de la entomofauna en contacto con las flores de los cultivos implicados, comparando su abundancia y riqueza con el pico de floración, analizando la relación entre las diferentes estaciones de estudio.
- 4- Analizar el comportamiento de *Apis mellifera* abordando la flor del manzano, para determinar si las que abordan desde el costado pueden ser consideradas polinizadoras.
- 5- Determinar los recursos que el cultivo de soja aporta a la dieta de las abejas *A. mellifera*.

## CAPITULO 2

### DEPENDENCIA A LA POLINIZACIÓN ENTOMÓFILA Y RELEVAMIENTO DE LOS INSECTOS POLINIZADORES EN SOJA

*Glycine max* (L.) Merril: FABACEAE

#### 2.1 INTRODUCCIÓN

La soja (*Glycine max*) es una especie autógama (Carlson y Lester, 2004), pero se ha reportado que la presencia de insectos polinizadores mejora la producción de semillas en diversas variedades, tanto en cantidad como en calidad de las mismas (Erickson, 1975; Erickson *et al.*, 1978; Abrams *et al.*, 1978; Sim y Choi, 1993; Moreti *et al.*, 1998; Chiari *et al.*, 2005a, 2008; Ortiz-Pérez *et al.*, 2007; Zhao *et al.*, 2009). Los resultados reportados sobre la producción de semillas de soja empleando a las abejas melíferas (*Apis mellifera*) como polinizadores han sido muy variables. Por un lado, en Estados Unidos Erickson (1975), Abrams *et al.* (1978) y Erickson *et al.* (1978) utilizaron cultivos en carpas experimentales con y sin abejas obteniendo aumentos de rendimiento moderados, entre 5 y 20%, por efecto de la polinización. En cambio, en Brasil Moreti *et al.* (1998), Chiari *et al.* (2005a, 2008) encontraron que las plantas de soja polinizadas por abejas presentaban entre 54,1 y 80,7% más vainas y entre 37,8 y 82,3% más semillas que las plantas cubiertas para excluir a los insectos. Chiari *et al.* (2005b) también hallaron que las plantas polinizadas por abejas melíferas presentaban menos semillas abortadas que las que no fueron polinizadas (53,3 y 82,9%, respectivamente).

Muchas variedades de soja poseen recompensas de polen y néctar para que diferentes insectos las visiten en busca de proteínas y carbohidratos (Erickson y Garment, 1979). Sin embargo, estas flores no son siempre atractivas para los insectos, ya que diversas condiciones ambientales durante el crecimiento y floración de las plantas afecta el desarrollo de sus características entomófilas (Robacker *et al.*, 1982, 1983; Severson y Erikson, 1984).

La soja es uno de los granos más cultivados en el mundo. En Uruguay la superficie sembrada ha tenido un gran incremento en los últimos años. Según las estadísticas oficiales en la temporada 2010/2011 se sembraron 862.100 ha (MGAP, 2011), siendo los departamentos de Soriano y Río Negro en el litoral oeste del país los de mayor superficie. Coincidentemente es en estos departamentos donde se encuentra el mayor número de colmenas y productores apícolas del país. El incremento del cultivo de soja desplazando a otros cultivos de valor nutricional para insectos polinizadores, como las leguminosas forrajeras, especialmente en el litoral oeste del país, trajo como consecuencia una disminución en los rendimientos de miel, lo que llevó a una reducción de la actividad apícola (Díaz y Raudovínche, 2010) y es posible que se afecten también otras poblaciones de insectos polinizadores.

Por otra parte, los cultivos de soja suelen recibir diferentes tipos de agroquímicos, que afectan a los insectos. Así como las colonias de abejas melíferas sufren despoblamiento por la acción de los insecticidas (Devillers *et al.*, 2002), debe suceder lo mismo con las poblaciones naturales de insectos que se alojan en el cultivo.

En Uruguay no existen estudios sobre el impacto de insectos en la producción de semillas de soja. Los antecedentes positivos reportados por Erickson (1975), Erickson *et al.* (1978), Abrams *et al.* (1978), Moreti *et al.* (1998), Chiari *et al.* (2005a, 2008), de

confirmarse en el país, y dependiendo de la magnitud del beneficio, podrían generar una complementariedad entre la producción sojera y la apicultura relativizando el antagonismo planteado actualmente.

Siguiendo con las hipótesis planteadas, el objetivo principal de este estudio fue determinar si los insectos contribuyen a aumentar la producción de semillas de soja en un cultivo convencional y cuáles son los insectos más relevantes trabajando en la polinización del cultivo. Además por la particularidad social y económica que implica este cultivo para la apicultura implantada en Uruguay, se estudiaron algunos aspectos que implican especialmente a la abeja *Apis mellifera*. En este sentido, se estudió que aportes de recursos alimenticios con interés productivo, ofrece la soja a la abeja melífera.

## **2.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.2.1 Descripción del área de estudio**

El presente estudio se realizó durante el verano del año 2009 en la localidad de Palmitas, departamento de Soriano (33°37' S, 57°57' O) en una parcela de 120 ha de soja de la variedad A6411RG. Esta variedad se caracteriza por poseer una flor rosada y un período de floración que transcurre desde mediados de enero a mediados de febrero. Circundando la parcela había tierras cultivadas con soja de segunda temporada, que florecieron con posterioridad. Para controlar las lagartas, previo al inicio de la floración se aplicaron sobre el cultivo dos productos inhibidores de quitina y un producto acelerador de mudas. Previo al inicio del ciclo floral, se colocaron 10 colmenas, con 10 cuadros de cría y completas de abejas a 200 m del cultivo.

### **2.2.2 Frecuencia de visitas a los cultivos**

Se tuvo en cuenta para realizar el cronograma de visitas al cultivo, el período de floración de esta especie que dura aproximadamente un mes (Salvagiotti *et al.*, 2010). A partir del inicio del periodo, las visitas se realizaron una vez por semana durante todo el periodo de floración.

El cultivo fue visitado 7 veces (los días 10, 21 y 26 de enero, 2, 9 y 24 de febrero y 5 de abril) El día 10 de enero se emplazó el apiario de observación. El día 21 de enero, no había comenzado la floración y se instalaron en ese entonces las carpas de exclusión de los polinizadores. Los días 26/1, 2/2 y 9/2 se realizaron los relevamientos de insectos. Los datos del 2/2 no fueron tratados en este estudio dado que por inclemencias del tiempo se obtuvieron pocos registros. El 24/2 se procedió al quitado de las carpas de exclusión dado que había finalizado la floración. El 5/4 se procedió a cosechar los frutos de las plantas de las parcelas marcadas y evaluar el cuajado de los mismos.

### **2.2.3 Evolución de la floración**

En cada visita al cultivo se contabilizó la cantidad de flores abiertas en 50 plantas, elegidas al azar, de una de las parcelas demarcadas con libre polinización.

### **2.2.4 Dependencia del cultivo a la polinización entomófila**

Para determinar la dependencia del cultivo a la polinización entomófila se procedió a cubrir áreas del cultivo. A 200 y 500 m del apiario se marcaron 10 parcelas (en cada area) de 3 x 4 m cubriendo 5 de ellas con un tejido de 1 mm de perforación a 1 m de altura para impedir el acceso de insectos y otras 5 estuvieron expuestas a insectos polinizadores según la metodología de Chiari *et al* (2005b) (Figura 1).

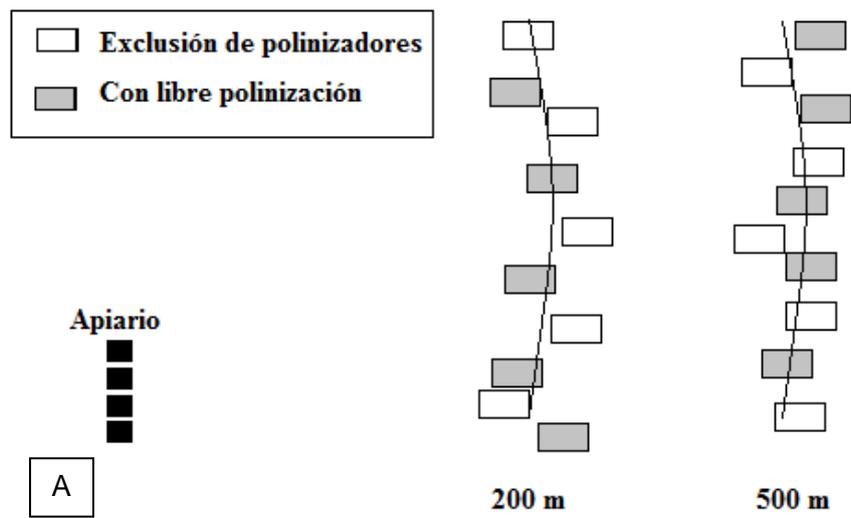


Figura. 1 – A) Diagrama de áreas con tratamientos de polinización libre y excluida B) Coberturas de 3x4x1 m evitando entrada de insectos con actividad polinizadora.

El encerrado de las flores se realizó antes de la antesis y se constató que la apertura floral procediera sin inconvenientes bajo la malla. Esta metodología de muestreo es avalada por referentes en estudios de polinización de cultivos. (Delaplane *et al.*, 2013).

### **2.2.5 Relevamiento de los insectos polinizadores**

Para registrar los insectos presentes sobre las flores de soja se establecieron transectas en el cultivo a 150, 200, 300, 400, 500 y 600 m del apiario. Estas transectas se recorrieron en tres momentos del día durante 1 a 3 hs cada vez, los días 26 de enero, 2 y 9 de febrero. Se observaron 600 flores de soja por cada transecta, registrando las especies y abundancia de insectos presentes sobre las flores. Los insectos que no pudieron reconocerse en el campo se recolectaron para su posterior identificación. Para el caso de las abejas melíferas se registró además, si estaban colectando polen y/o néctar de las flores. Los insectos fueron registrados visualmente y se recolectaron con una red entomológica los desconocidos, se mataron con acetato de etilo en frasco matador y posteriormente se acondicionaron en un recipiente con etiqueta de papel indicando fecha, localidad y horario de captura, para su posterior clasificación. La identificación de los diferentes insectos capturados se hizo utilizando las claves de Richards y Davies (1984), Artigas y Hengst (1999), Arnett y Thomas (2001), Arnett *et al.* (2002) y Michener (2007). Ejemplares representantes de todos los grupos taxonómicos fueron incluidos en la colección privada de la autora y se separó un grupo de ellos para ser incluidos en la colección de Entomología de la Facultad de Ciencias. Los visitantes florales fueron registrados en tres periodos del día: de mañana, al medio día y de tarde. Esta metodología es tomada de Chiari *et al* (2005b) y es avalada por Delaplane *et al*, 2013.

### **2.2.6 Estimación del cuajado de los frutos**

La producción de soja en las parcelas experimentales se determinó una vez que las vainas estuvieron maduras. Se retiraron los tules cobertores y en una fecha posterior se colectaron las vainas de cinco plantas al azar, de cada tratamiento, para cuantificar el número de semillas por planta a 200 y 500 m del apiario (Figura 2).

Para comparar el peso de los frutos cuajados, se tomaron 1000 semillas al azar de cada tratamiento y se pesaron en balanza de precisión.



Figura 2. Fruto de la *G. max* (soja) con óvulos fecundados y no fecundados.

## 2.2.7 Recursos de néctar y polen utilizados por las colmenas

**2.2.7.1 Origen botánico del polen colectado por las abejas.** Para colectar el polen corbicular de las abejas pecoreadoras se colocaron trampas cazapolen de piquera en todas las colmenas del apiario de mañana y de tarde (aproximadamente 3 hs en cada turno) los días 26 de enero y 9 de febrero. Cada muestra de polen se mantuvo en bolsas de nylon de forma separada para su posterior análisis palinológico en laboratorio. En el laboratorio se procedió a separar y cuantificar por color las pelotitas de polen de cada muestra. Luego se tomó una muestra de cada color y sin tratamiento químico se montó en un portaobjetos, para observarse al microscopio (400 x). La identificación del origen botánico del polen se realizó utilizando la colección de referencia particular de la autora.

**2.2.7.2 Determinación del contenido de proteína cruda del polen de soja.** Para evaluar la importancia nutricional del polen de soja para la abeja melífera, una muestra de polen corbicular de soja obtenida el 26 de enero con aportes de todas las colmenas fue enviada al laboratorio de análisis y nutrición de INIA La Estanzuela,

Colonia. Allí el equipo de analistas se encargó del procesado de la muestra, secándola a 60 °C hasta alcanzar un peso constante. El contenido de proteína fue determinado usando la técnica de digestión ácida de Kjeldahl ( $N \times 6,25$ ) (Roulston y Cane, 2000).

**2.2.7.3 Origen botánico del néctar colectado por las abejas.** Al finalizar la floración de la soja, de cada colmena se extrajo la miel mediante prensado de los panales y se obtuvo una muestra para su posterior análisis palinológico. Una solución de 20 g de miel en agua destilada se centrifugó a 2500 rpm durante 10 min para concentrar los granos de polen. Se retiró el sobrenadante y con el residuo obtenido se realizó un preparado para ser observado en microscopio óptico (Louveaux *et al.*, 1978; Von der Ohe *et al.*, 2004). Para realizar un análisis cuantitativo se contaron 600 granos de polen registrando, con la ayuda de las dos palinotecas, el origen botánico de cada uno.

**2.2.7.4 Producción de miel.** Al comenzar la floración se agregaron cuadros vacíos a las colmenas, en una media alza (cajón melario) para que las abejas almacenaran el recurso de néctar colectado durante la floración del cultivo de soja. Previo a esto se determinó el peso de esa alza melaria vacía. Una vez finalizada la floración de la soja se determinó la producción de miel de cada colonia como la diferencia entre el cajón melario lleno (final) y vacío (inicial).

## **2.2.8 Análisis de suelo**

Para explicar diferencias encontradas en la producción de semillas a diferentes distancias del cultivo con el apiario, se tomaron 20 muestras de suelo para determinar el contenido de nitrógeno y potasio, a 200 m y 500 m del apiario (diez muestras en cada zona). Las muestras se enviaron al laboratorio de análisis de suelo de Facultad de Ciencias. La determinación de N se hizo según el método de Nessler, una técnica

cuantitativa colorimétrica empleando el reactivo de Nessler. En este laboratorio se determinó además el nivel de potasio con la técnica de quemado y medición mediante fotómetro de la intensidad de la llama con longitud de onda de 762 mm. Para medir la profundidad del suelo se tomo una muestra con barrena de un metro de largo. Las técnicas utilizadas fueron según Paneque *et al.* 2010.

### **2.2.9 Tratamiento de los datos**

Para la comparación de fructificación (cantidad de semillas por planta) de los tratamientos con libre polinización y exclusión de polinizadores se realizó un análisis de comparación de muestras, ANOVA (Análisis de las varianzas) siguiendo la metodología utilizada por Chiari *et al.* 2005. Los datos fueron analizados estadísticamente según diseño completamente aleatorizado. Este análisis se aplicó también para estudiar si hay diferencias significativas en el contenido de la Potasio y Nitrógeno, entre muestras de suelos a 200 y 500 m.

Se determinó la abundancia y riqueza de especies de insectos presentes en el cultivo, contabilizando los registros realizados. Se determinó también la abundancia de los pólenes colectados por las abejas.

## **2.3 RESULTADOS**

### **2.3.1 Evolución de la floración**

La cantidad flores presentes en las 50 plantas fue variable en cada visita al cultivo realizada. En la visita del 21 de enero no habían flores abiertas, pero sí se detectaron esbozos florales. En la visita del 26 de enero se contabilizó un total de 270 flores, con un promedio de 5.4 flores por planta. En la visita del 2 de febrero se

contabilizó un total de 165 flores, siendo el promedio de 3.3 flores por planta. En la visita del 9 de febrero se contabilizó un total de 90 flores, siendo el promedio de 1.8 flores por planta. El pico de floración ocurrió el 26 de enero (Figura 3).

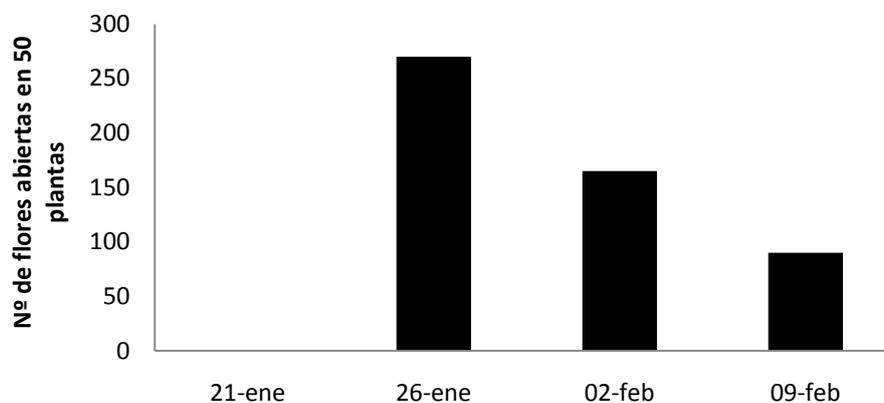


Figura 3 – Evolución de la floración del cultivo de soja en Soriano (2009).

### 2.3.2 Dependencia de la soja a la polinización entomófila

La evaluación de la incidencia de los polinizadores en el cuajado de los frutos, estimada mediante el conteo de las semillas por planta presentes en las parcelas de libre polinización y las parcelas con exclusión de polinizadores, se muestra en la Figura 4. Para el análisis no fueron consideradas dos parcelas con exclusión de polinizadores ubicadas a 200 y 500 m del apiario por presentar valores *outliers*, determinado por los cuartiles [ $Q1 - 1.5 (Q3 - Q1)$ ,  $Q3 + 1.5 (Q3 - Q1)$ ]. A 200 m del apiario, el promedio de semillas por planta obtenido en las parcelas de libre polinización fue 5% superior al de las parcelas con exclusión de polinizadores, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa (ANOVA;  $F = 0,63$ ;  $P = 0,45$ ). A 500 m del apiario la producción de semillas fue significativamente diferente, siendo 25% mayor en la parcela con libre polinización (ANOVA;  $F = 7,65$ ;  $P = 0,03$ ) (Figura 4).

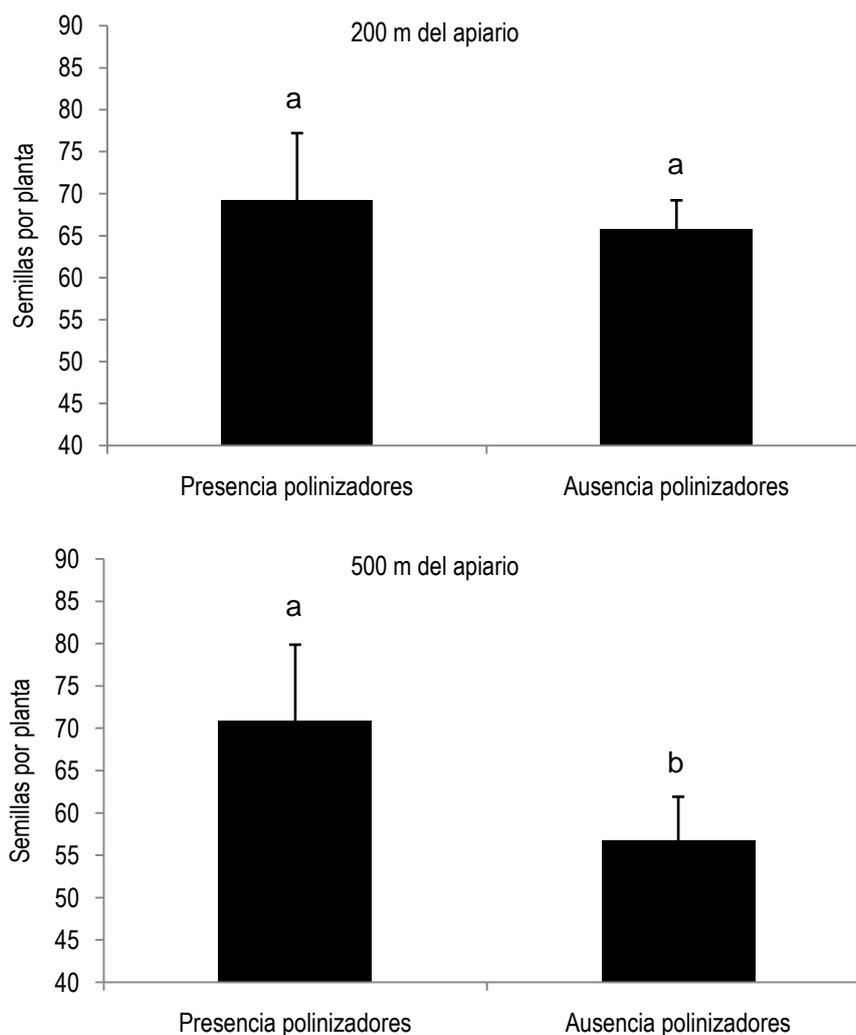


Figura 4. Producción de semillas por planta en las parcelas con presencia y ausencia de polinizadores, a 200 y 500 m del apiario. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) para el Test de ANOVA.

Los polinizadores no tuvieron ningún efecto en el peso de las semillas. A 200 m del apiario, el peso de 1000 semillas en presencia y ausencia de polinizadores fue de  $187,3 \pm 14,6$  g y de  $198,0 \pm 2,7$  g (eliminando un valor *outlier*) respectivamente (ANOVA;  $F = 1,98$ ;  $P = 0,20$ ). A 500 m del apiario los valores encontrados en presencia y ausencia de polinizadores fue de  $184,9 \pm 14,0$  g y de  $180 \pm 6,7$  g, respectivamente (ANOVA;  $F = 0,33$ ;  $P = 0,58$ ).

### 2.3.3 Análisis de suelo

Se determinó el contenido de nitrógeno y potasio a 200 y 500 m del apiario. El suelo a 200 m del apiario contuvo  $0,23 \pm 0,01\%$  de nitrógeno, mientras que a 500 m la concentración fue  $0,26 \pm 0,02\%$ , siendo significativamente mayor (ANOVA;  $F = 12,90$ ;  $P=0,002$ ) En relación al potasio la concentración hallada a 200 m fue de  $1,31 \pm 0,07$  meq/100g mientras que a 500 m fue de  $0,94 \pm 0,14$  meq/100g, determinando diferencias significativas (ANOVA;  $F = 53,75$ ;  $P<0,001$ ). Por otra parte, se constató que el suelo a 500 m del apiario era más superficial, con menos espacio para la exploración radicular, que a 200 m, siendo de 42 cm y 60 cm respectivamente (Figura 5).



Figura 5. Profundidad del suelo a 200 m (izquierda) y 500 m (derecha) del apiario.

### 2.3.4 Relevamiento de insectos polinizadores

Los insectos observados en el periodo de estudio pertenecen a los órdenes Hymenoptera, Coleoptera, Dictyoptera, Thysanoptera y Díptera. El orden Hymenoptera fue el más abundante representado por las familias Apidae, Megachilidae y Halictidae. (Tabla I).

Tabla I. Clasificación de los insectos observados visitando las flores de soja.

<b>Orden</b>	<b>Familia</b>	<b>Género-Especie</b>	<b>Abundancia absoluta</b>
Hymenoptera	Apidae	<i>Apis mellifera</i>	230
		<i>Melissodes</i> sp.	14
	Halictidae	<i>Augochlora amphitrite</i>	28
	Megachilidae	<i>Megachile</i> sp.	13
Coleoptera	Chrysomelidae	Chrysomelidae 1	4
		<i>Diabrotica speciosa</i>	9
Thysanoptera	Tripidae	<i>Thrips</i> sp.	13
Diptera	Drosophilidae	<i>Drosophila</i> sp.	7
Dictyoptera	Blattellidae	Blattellidae 1	7
<b>Total</b>			<b>325</b>

Los ápidos fueron los más representativos, destacándose en ambos muestreos, la presencia de abejas melíferas con un 70,5% de los 325 registros totales. En el primer muestreo (26 de enero) se registró una mayor abundancia y riqueza de insectos (n = 261; 9 spp.) que en el segundo (9 de febrero) (n = 64; 4 spp.) (Figuras 6 A y B).

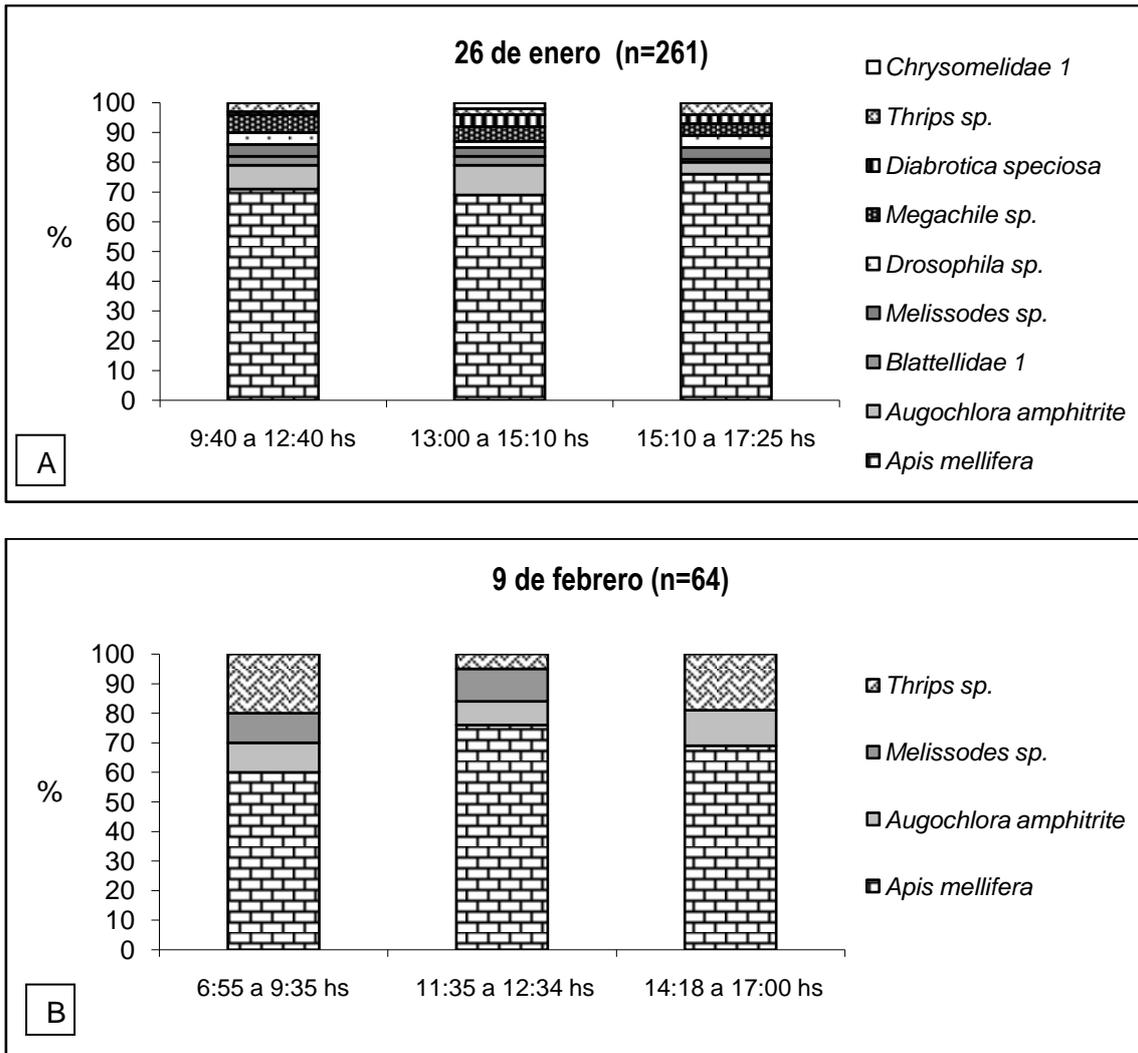


Figura 6. Abundancia relativa de los insectos que visitaron las flores de soja los días 26 de enero (A) y 9 de febrero (B).

Las abejas melíferas se distribuyeron de forma bastante uniforme dentro de una distancia de 600 m del apiario (Figura 7 A y B). En el registro del 26 de enero las abejas visitaron las flores de soja en mayor proporción durante la tarde. En cambio, en el registro del 9 de febrero, en el que la cantidad de abejas observadas fue sensiblemente inferior a las del registro anterior, las abejas trabajaron en el cultivo preferentemente en torno al mediodía.

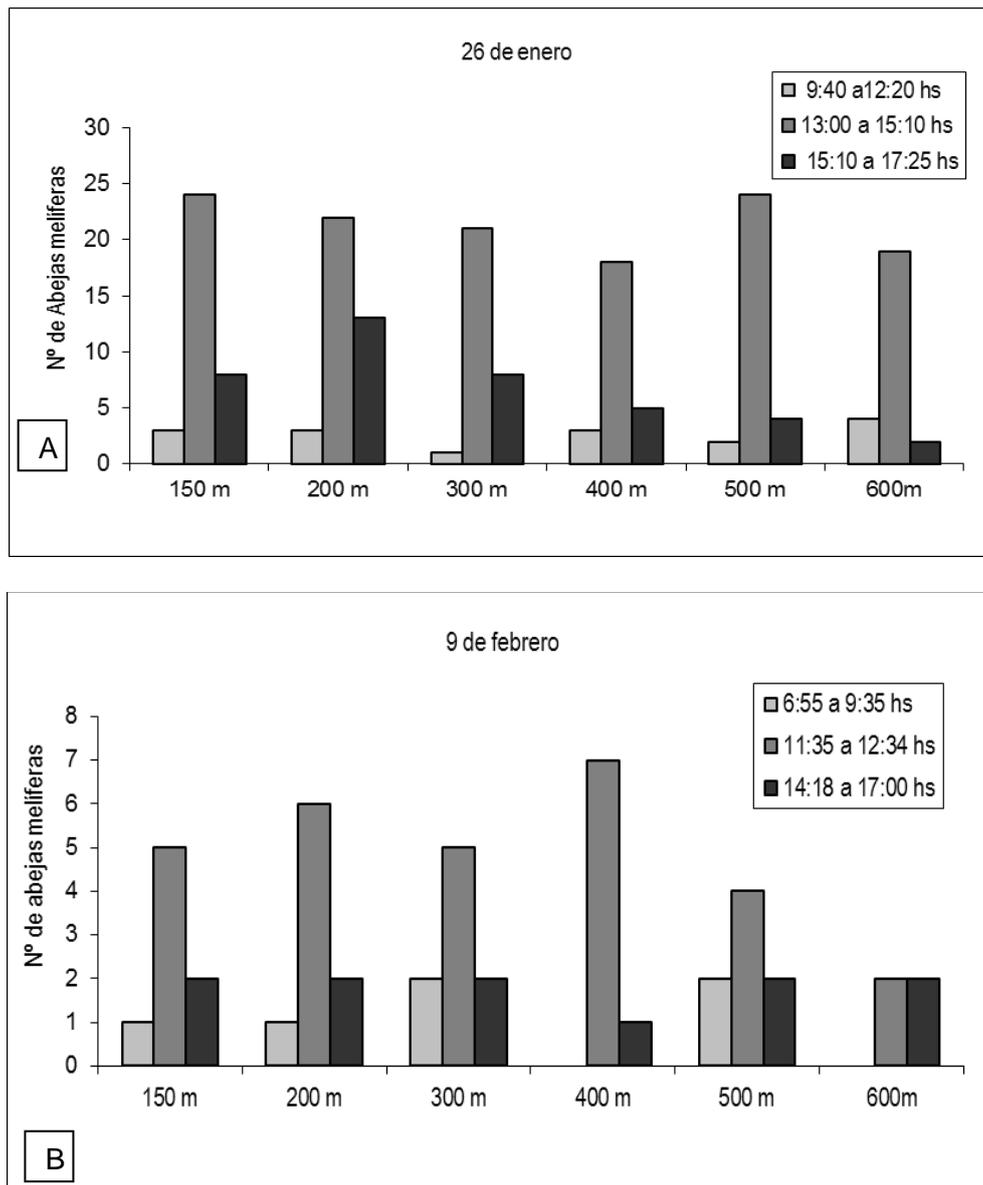


Figura 7. Presencia de abejas melíferas a diferentes distancias del apiario.

El 26 de enero se encontró que en los tres horarios las abejas que no cargaban polen eran más abundantes que las que cargaban polen. Esta diferencia se acentuó fuertemente durante la tarde (Figura 8). Si bien en los tres horarios las abejas colectaron menos polen, según el "Exact binomial test" en la mañana no hay diferencias significativas ( $P=0.227$ ), sin embargo en los horarios de la tarde si ( $P=0.046$  y  $P<0.001$  respectivamente). Según "Pearson's Chi-squared test" no hay independencia entre el

tipo de colecta y el horario ( $P < 0.001$ ), dicho de otra manera el tipo de colecta varía según la hora del día.

La misma tendencia se observó en la cantidad de polen capturado en las colmenas durante la mañana y la tarde como se muestra en el siguiente punto. Esta comparación no se hizo con los registros del 9 de febrero debido al bajo número de abejas encontrado.

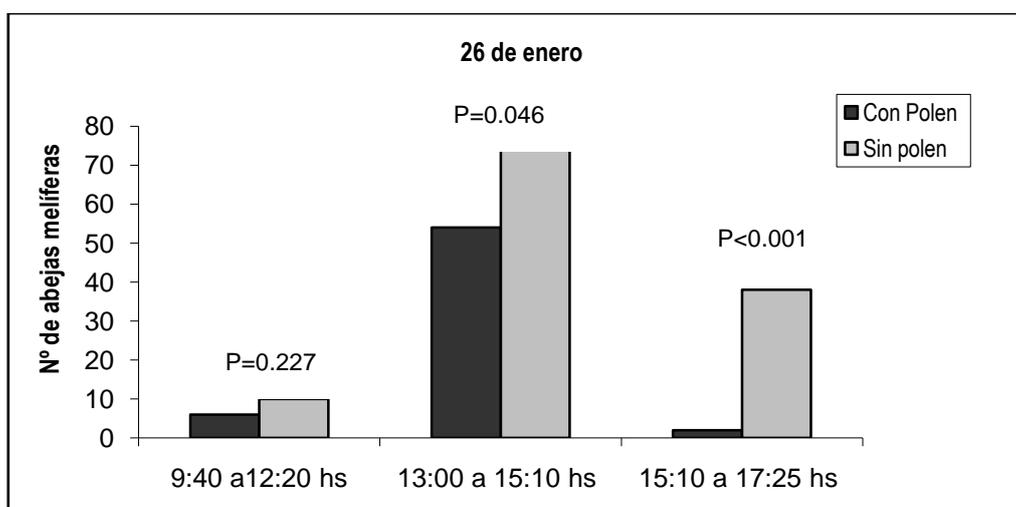


Figura 8. Recurso colectado por las abejas melíferas el día 26 de enero

### 2.3.5 Recursos de néctar y polen utilizados por las colmenas

El análisis palinológico de las muestras de polen y miel determinó que las abejas utilizaron esta variedad de soja como recurso polinífero y nectarífero. En todas las colonias se capturó polen de soja, siendo mayor el ingreso en horas de la mañana. En el muestreo del 26 de enero se contabilizaron un total de 21363 cargas de polen en la colecta matutina, mientras que por la tarde se colectaron un total de 4274 cargas (Figura 9A). De forma similar, en el muestreo del 9 de febrero se colectaron 11666 y 4963 cargas de polen durante la mañana y la tarde, respectivamente (Figura 9B).

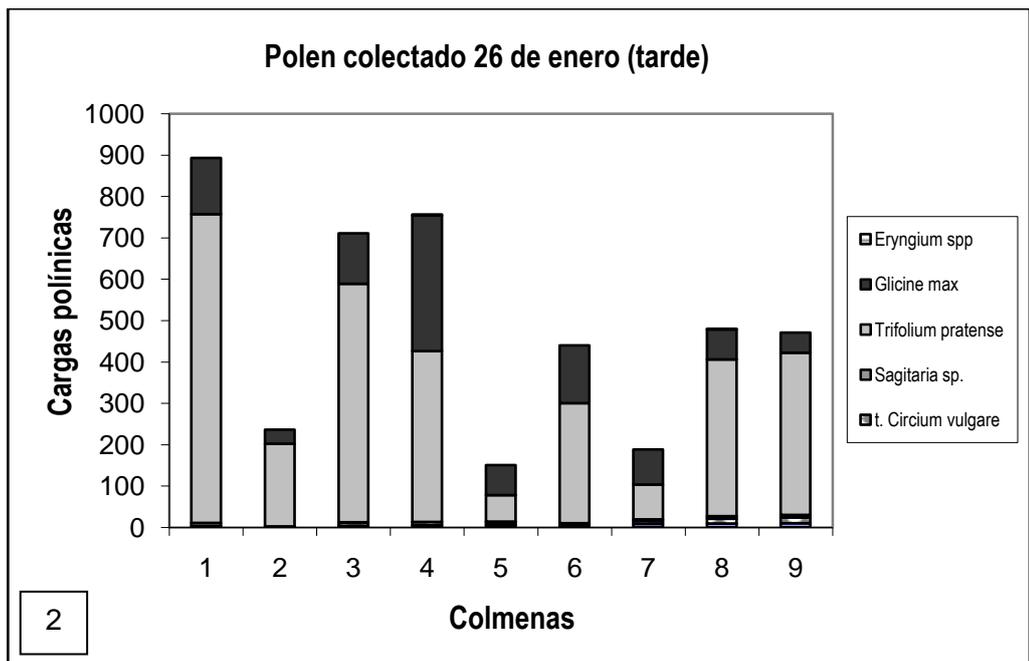
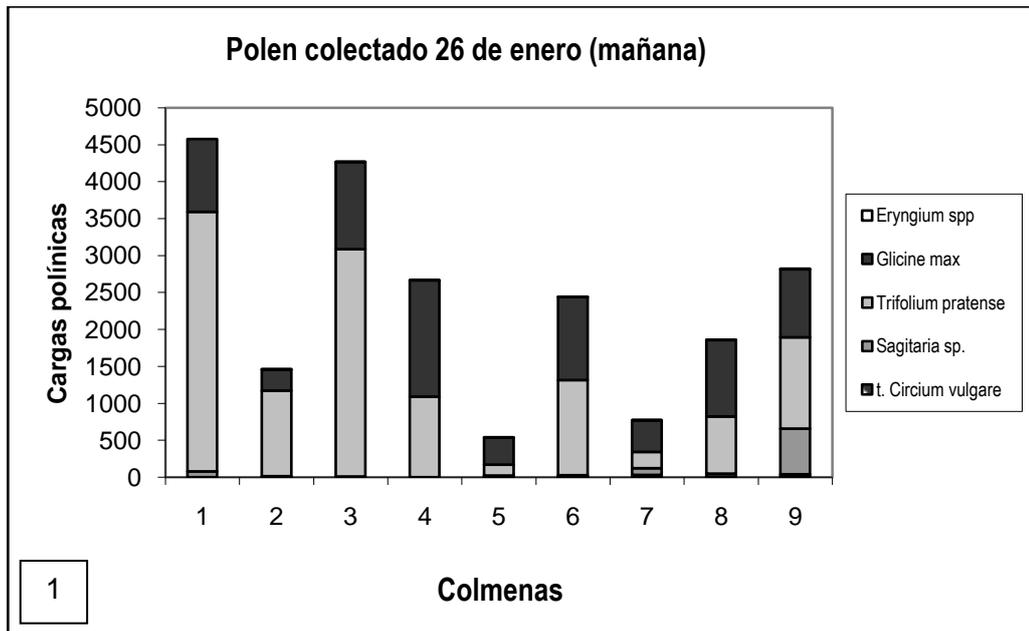


Figura 9A. Origen botánico de los diferentes pólenes que ingresaron a las colmenas el 26 de enero durante la mañana (1) y la tarde (2).

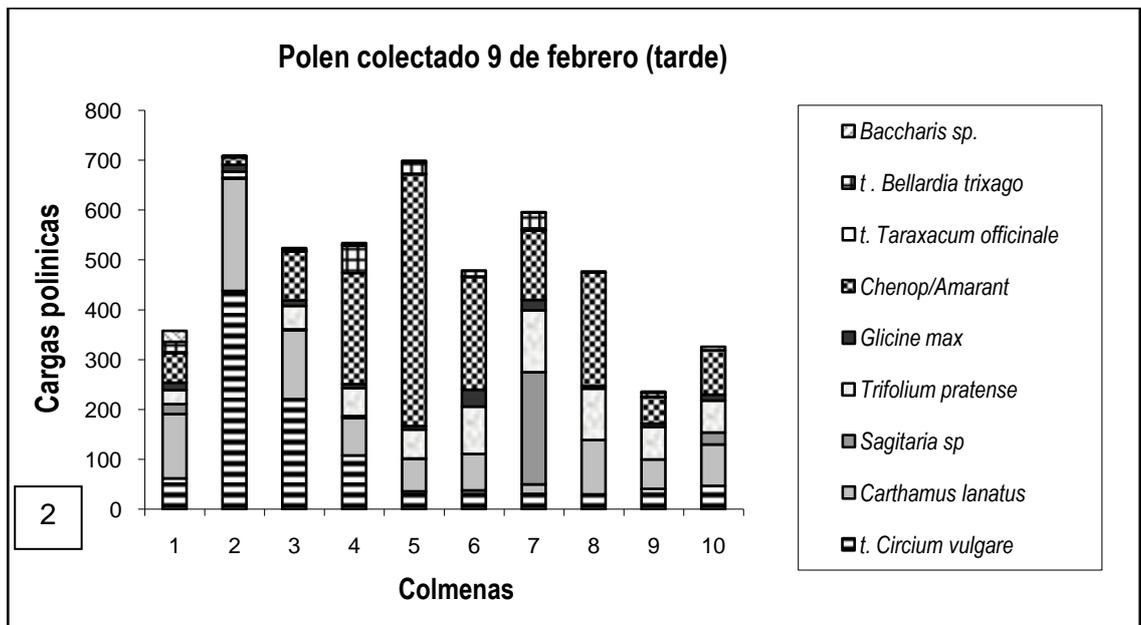
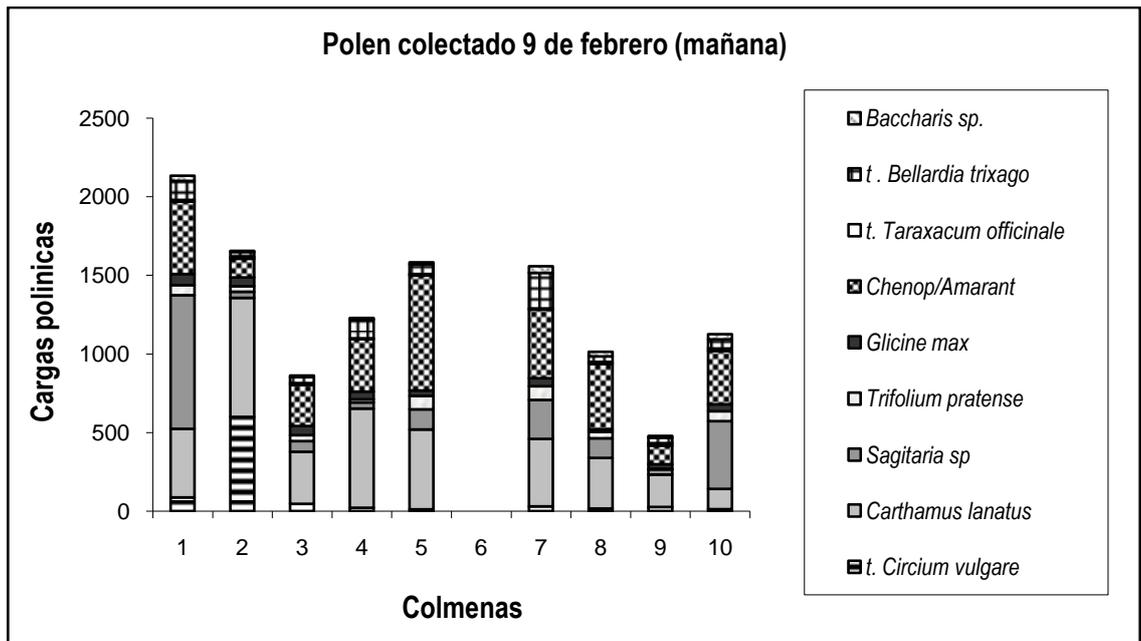


Figura 9B. Origen botánico de los diferentes pólenes que ingresaron a las colmenas el 9 de febrero durante la mañana (1) y la tarde (2).

La diversidad de pólenes encontrada en el muestreo del 26 de enero (5 especies) fue bastante menor a la hallada en el muestreo del 9 de febrero (9 especies). En el primer muestreo el recurso polinífero más explotado fue el trébol rojo, lo que llama la atención ya que la parcela donde se encontraba estaba a no menos de 4 km del apiario.

El segundo recurso en importancia fue la soja. Estas dos especies aportaron casi la totalidad del polen que colectaron las abejas. En cambio, 14 días después las abejas explotaron una mayor cantidad de especies botánicas, siendo el trébol rojo y la soja muy poco visitados por las abejas.

El 26 de enero no se detectaron cambios importantes entre la mañana y la tarde en la proporción de los diferentes pólenes colectados. En cambio, el 9 de febrero durante la tarde las abejas incrementaron la proporción de pólenes de trébol rojo y cardo negro (*Carthamus lanatus*) colectados en relación a la mañana.

El análisis del contenido de proteína cruda del polen de soja arrojó un valor de 28%. De acuerdo al contenido de proteína cruda, Kleinschmidt y Kondos (1976) clasifican la calidad del polen en tres categorías: excelente (mayor a 25%), promedio (20 a 25%) y pobre (menor a 20%). Según estos investigadores el polen con menos de 20% de proteína cruda no puede satisfacer los requerimientos de la colonia para el desarrollo óptimo de la cría. Por lo que este polen de soja sería un polen de calidad excelente.

En cuanto al aporte de néctar que puede brindar la soja, en este estudio se encontró que las colmenas produjeron en promedio  $10,5 \pm 1,7$  kg de miel en un periodo de 30 días. El estudio polínico de las mieles producidas revela que la soja fue la principal fuente de néctar en todas las colonias, presentando entre 38% y 50% de los granos de polen encontrados.

Después de la soja las fuentes de néctar más importantes fueron trébol rojo, eucaliptos y lotus (Tabla II).

Tabla II. Origen botánico de las mieles producidas por las diferentes colmenas.

Especie	Cantidad de polen (%)										x	DS
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
<i>Glicine max</i>	38	39	42	37	51	45	36	35	50	43	41,6	5,7
<i>Trifolium pratense</i>	29	33	21	25	31	30	27	15	17	22	25,0	6,1
<i>Eucalyptus</i> spp.	10	9	12	7	8	13	12	26	13	17	12,7	5,5
<i>Lotus</i> spp.	12	13	5	11	7	11	9	4	7	8	8,7	3,0
<i>t. Cynara cardunculus</i>	6	4	5	0	1	1	3	5	10	4	3,9	2,9
<i>Chenopodiaceae/Amaranthaceae</i>	0	1	10	12	1	0	9	12	3	1	4,9	5,2
<i>Sagitaria</i> spp.	5	1	5	8	1	0	4	3	0	5	3,6	2,6

## 2.4 DISCUSIÓN

### 2.4.1 Evolución de la floración

De acuerdo con Salvagiotti *et al.*(2010), el periodo de floración de esta variedad de soja ha sido de aproximadamente un mes. Dado los resultados obtenidos se observa que la floración de la soja se ha dado de forma explosiva en torno al 26 de enero donde se identificó el pico de floración. A partir de esta fecha la floración decreció constantemente.

### 2.4.2 Dependencia de la soja a la polinización entomófila

Este estudio apoya la primera hipótesis planteada, dado que la soja forma sus frutos por autogamia, pero se ha constatado que la presencia de insectos en el ambiente incrementa la producción de semillas.

Considerando que todos los insectos participaron de la polinización en igual medida, podemos determinar que el 70% del incremento en semillas se debió a la

presencia de abejas melíferas. Sin embargo en un estudio similar, Losey y Vaughan (2006) asignaron a las abejas melíferas el 50% de la responsabilidad en el incremento de semillas de soja. En cambio Chiari *et al.* (2005a, 2005b, 2008) comparando la producción de semillas de cultivos en carpas con abejas melíferas y cultivos al aire libre con presencia de diferentes insectos polinizadores, incluidas las abejas melíferas, determinaron que éstas fueron responsables del 95,5; 87,7 y 97,4% de la producción en cada uno de los estudios, respectivamente. La diferencia encontrada al momento de determinar la responsabilidad de las abejas melíferas en la producción de semillas posiblemente se deba a la cantidad de abejas nativas y otros insectos polinizadores presentes en el cultivo durante el periodo de floración.

Respecto al peso de las semillas, si bien no se vio diferencias entre las áreas de estudio, es destacable que la variación en el peso de 1000 semillas fue mucho mayor en las plantas que recibieron polinizadores. Esto puede indicar que de las plantas con libre polinización, solo algunas flores recibieron polinizadores. Incluso algunos de los insectos hallados son más efectivos polinizadores que otros y se nota su efecto en las flores que éstos visitan.

El efecto de los polinizadores en la producción de semillas a 200 y 500 m del apiario no puede explicarse por el número de abejas presentes en ambas distancias, ya que no se constataron diferencias claras en la abundancia de insectos entre ambos puntos. Fundamentalmente el día 26 de enero donde la floración de la soja fue mayor.

### **2.4.3 Análisis del suelo**

Robacker *et al.* (1983) encontraron que la composición del suelo incide sobre las características de la floración de la soja y, en forma asociada, el efecto de los polinizadores. Para determinar si las diferencias en el efecto de las abejas sobre la producción de semillas a 200 y 500 m del apiario podría explicarse por factores edáficos se determinó el contenido de nitrógeno y potasio en ambos sitios. Los valores hallados muestran diferencias significativas en los dos sitios de estudio, mostrando diferente calidad de suelo a 500 m. Es posible que las flores formadas en estas zonas tuvieran características diferentes y los polinizadores adquieren relevancia en suelos donde hay más N (factor que se relaciona con el crecimiento de la planta) y menos K (factor que se relaciona con la floración), como ocurrió a los 500 m. Tal vez en este tipo de suelo la autogamia se ve desfavorecida y los polinizadores se vuelven más importantes removiendo el polen. Más estudios son necesarios para revelar este aspecto.

### **2.4.4 Relevamiento de insectos polinizadores**

Así como se ha obtenido en muchos estudios realizados en polinización, era de esperar que el orden Hymenoptera fuese el más representado sobre las flores. Son estos resultados consistentes con los obtenidos por Erickson *et al.* (1978), Abrams *et al.* (1978) y Chiari *et al.* (2005). La ausencia de lepidópteros puede explicarse por la aplicación de insecticidas sobre el cultivo que actúa sobre el estado larval de los insectos.

Respecto a la abundancia de insectos trabajando sobre las flores, se constató que es mayor en el primer muestreo que en el segundo. Esta diferencia coincide con el pico de floración de la soja y la menor cantidad de flora competitiva observada en las zonas linderas de los caminos. Al momento de realizar el segundo muestreo, la floración de la

soja había disminuido y florecieron en el entorno de la parcela, algunas plantas que posiblemente fueron explotadas por los distintos polinizadores. En particular se observó que *Apis mellifera* exploró nuevos recursos florales en el segundo muestreo, y estos corresponden a especies malezas del borde de caminos.

La presencia de *Thrips* registrada en la plantación, posiblemente haya sido subestimada debido a la dificultad de visualizarlos. Zhao *et al.* (2009) en un estudio de polinización de soja con abejas cortadoras de hojas (*Megachile rotundata*), estimó que los *Thrips* son importantes polinizadores de las variedades que utilizó. Considerando la condición autógena de la soja, es muy posible que este grupo de insectos participe activamente en la polinización favoreciendo el movimiento de granos de polen dentro de la misma flor. En estudios posteriores sería importante evaluar mejor la presencia de *Thrips* y su eficiencia como polinizadores en cultivos de soja en Uruguay, utilizando otro método de recolección y observación (por ejemplo con lupas).

Las abejas se distribuyeron de forma bastante uniforme dentro de una distancia de 600 m del apiario (Figura 7). En el registro del 26 de enero las abejas visitaron las flores de soja en mayor proporción durante la tarde. En cambio, en el registro del 9 de febrero, en el que la cantidad de abejas observadas fue sensiblemente inferior a las del registro anterior, las abejas trabajaron en el cultivo preferentemente al mediodía. En el segundo registro, la oferta de nuevos recursos botánicos pudo haber afectado tanto la cantidad de abejas en las flores de soja como el horario de visita a las mismas.

#### **2.4.5 Recursos de néctar y polen utilizados por las colmenas**

En el primer muestreo del 26 de enero, se colectó más cantidad de polen que en el segundo del 9 de febrero. El menor ingreso de polen en el segundo muestreo puede

deberse a un menor requerimiento de las colonias, al comenzar a reducir el área de cría con el avance del verano ó a la menor oferta de polen en el ambiente.

La diversidad de pólenes encontrada en el muestreo del 26 de enero fue bastante menor a la hallada en el muestreo del 9 de febrero. Este cambio puede explicarse por la disminución de flores de ambas plantas (claramente observada en la soja) y/o la aparición de otras fuentes de polen más atractivas.

El 26 de enero no se detectaron cambios importantes entre la mañana y la tarde en la proporción de los diferentes pólenes colectados. En cambio, el 9 de febrero durante la tarde las abejas incrementaron la proporción de pólenes de trébol rojo y cardo negro colectados en relación a la mañana. La capacidad de las colonias de cambiar los recursos explotados en tiempos cortos en función de los flujos de néctar o cambios de floración ha sido claramente verificada por Seeley (1995).

Cuando las abejas colectan polen no tienen capacidad para evaluar su valor proteico (Keller *et al.*, 2005) por lo que pueden llevar a la colmena pólenes de baja calidad (incluso tóxicos), afectando la alimentación de la colonia. En este sentido, el análisis del contenido de proteína cruda del polen de soja arrojó un valor importante (28%), superior al mínimo necesario sugerido por Kleinschmidt y Kondos (1976) para una alimentación adecuada de las abejas (20%). Entonces, la polinización de cultivos de soja no tendría aparejado como efecto negativo un déficit proteico de las colonias. De todos modos, como señala Santos *et al.* (2009) el valor nutritivo del polen también depende del contenido de aminoácidos esenciales y su digestibilidad, valores desconocidos para la soja.

Con respecto a que el néctar de soja fue predominante, si se compara este resultado con el encontrado al analizar el origen botánico del polen, donde la soja

apareció en segundo lugar detrás del trébol rojo (Figura 9), se puede inferir que la soja es utilizada por las abejas principalmente como un recurso nectarífero. De todos modos, no se puede descartar que el aporte de néctar del trébol rojo esté algo subestimado debido al gran tamaño de su grano de polen (Bryant y Jones, 2001). Llama la atención que tanto los eucaliptos como el lotus no figuran como recursos poliníferos de las colmenas (Figura 9). Santos *et al.* (2009) habían reportado que estas dos especies se encuentran entre las principales fuentes de polen de las abejas en Uruguay. El trébol rojo, que como ya se mencionó se encontraba a gran distancia del apiario, aparece como una especie que compite fuertemente con la soja, tanto como fuente de polen como de néctar. Esta leguminosa forrajera, ampliamente utilizada en Uruguay, puede ser uno de los principales problemas al intentar polinizar los cultivos de soja con abejas.

## 2. 5 CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El desarrollo de la agricultura en Uruguay, con fuerte presencia de los cultivos de soja, constituye un fenómeno que seguramente se mantendrá creciente en los próximos años. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que existe la potencialidad de un desarrollo complementario entre la actividad sojera y la apicultura, principalmente a través de los servicios de polinización. De todos modos, es necesario realizar más estudios sobre los beneficios de polinizar los cultivos de soja con abejas, atendiendo fundamentalmente a la presencia de recursos botánicos que compitan con la soja en la atracción de los polinizadores.

La complementación entre la industria sojera y apícola, puede estimularse en el futuro tomando un par de medidas. En primer lugar, se deben buscar variedades de soja que, sin sacrificar otras características favorables, tengan mayor producción de néctar,

lo que acarrearía un claro beneficio para los productores sojeros (mayor atracción de polinizadores, especialmente de abejas) y la apicultura (mayor cosecha de miel). Por otro lado, se debe extremar el cuidado en el momento de aplicar insecticidas, favoreciendo aquellos productos que no sean nocivos para las abejas y sí lo sean para las plagas del cultivo.

Los beneficios que puede recibir el productor apícola, ya sea brindando servicios de polinización como obteniendo cosechas de miel razonables, ayudaría a paliar las pérdidas de gran parte de las tradicionales fuentes de néctar, causadas en los últimos años por el avance de la agricultura.

Se han identificado dos especies de abejas nativas, entre otros insectos alimentándose de este cultivo, que favorecen también la polinización del mismo. Éstas deberían ser consideradas a la hora de establecer servicios de polinización, prestando especial atención a su dinámica poblacional e interacción con la abeja melífera que es exótica en nuestro país. En este sentido se deberían realizar más estudios para evitar una interacción negativa entre los diferentes polinizadores.

Este es el primer relevamiento que se hace en Uruguay, de insectos polinizadores en la soja, mostrando la importancia que éstos pueden tener en la producción y pueden ser considerados como insectos benéficos en el ambiente. Dado que este cultivo posee un control constante de insectos dañinos con diferentes agro-tóxicos, deberían tenerse en cuenta, de aquí en adelante, las poblaciones de insectos benéficos, como lo son los polinizadores, usando productos selectivos o manejo de horarios de aplicación que no afecten sus poblaciones.

## CAPITULO 3

### DEPENDENCIA A LA POLINIZACION ENTOMÓFILA Y RELEVAMIENTO DE LOS INSECTOS POLINIZADORES EN MANZANOS *Malus domestica* (L.) Borkh: ROSACEAE

#### 3.1 INTRODUCCIÓN

Las manzanas han sido parte de la dieta del ser humano desde la antigüedad (Sheffield *et al.*, 2005). El manzano *Malus x domestica* Borkh (Rosaceae: Maloideae) es un árbol de hoja caduca que crece naturalmente en montes de Europa y Asia Central (Janick, 2002). Se adapta muy bien a diferentes condiciones climáticas, suelos y sistemas de cultivo lo que ha permitido cultivarlo en todos los continentes, presentando diferentes variedades (Schneider & Scarbrough, 1980). Según las estadísticas del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP, 2012) en Uruguay hay en producción un total de 3452000 plantas cultivadas pertenecientes a diferentes variedades ubicadas fundamentalmente en el sur del país. Las variedades más representadas son Red Delicious, Granny Smith, Red Chief, Top Red, Early Red One y Royal Gala, constituyendo cerca del 69% del total. La producción anual de manzanas es de aproximadamente 73368 toneladas (MGAP, 2012).

Dentro de las características agronómicas del cultivo de manzana, se destaca la autoincompatibilidad genética, por lo que es necesario la fecundación cruzada para que exista producción de frutos; este es el motivo por el que suelen plantarse dos variedades compatibles en un mismo cultivo (Beltrán *et al.*, 2000; Guerrero *et al.*, 2006). Se han realizado algunos estudios para determinar las variedades más compatibles con cada

cultivo, para efectuar polinización cruzada, dado que deben considerarse diversos factores, siendo el más importante el que la variedad polinizadora y el cultivo florezcan sincrónicamente (Soltész, 1997; Vicens & Bosh, 2000, Guerrero *et al.*, 2006). También existen algunas variedades de manzanas autocompatibles, como es el caso de la Golden Delicious, pero éstas no son muy requeridas comercialmente, por lo que no se cultivan grandes extensiones.

Tanto en las manzanas que se producen con autoincompatibilidad como con autocompatibilidad en la flor, existen 10 óvulos, 2 por cada uno de los 5 carpelos presentes, y es necesario que se fecunden todos ellos para que el fruto tenga un aspecto redondeado. Con una mala polinización, no se fecundaran todos los óvulos y no se formará pulpa alrededor de ellos, produciéndose un fruto deforme y poco atractivo comercialmente (Thomson & Goodell, 2001). Normalmente las manzanas poseen semillas, aunque con técnicas de ingeniería genética se han desarrollado variedades que no requieren de polinización ya que forman fruto por partenocarpia. De todos modos, estas variedades de manzana sin semilla no se trabajan comercialmente aun (Yao *et al.*, 2001).

Si la variedad de manzano es autoincompatible o autocompatible, es necesaria la presencia de un agente polinizador que transporte los granos de polen de una variedad a otra ó dentro de la misma variedad (Thomson & Goodell, 2001; Sheffield *et al.*, 2005). En este sentido, la flor del manzano posee néctar y polen como recompensa para los polinizadores que la visitan, como la mayoría de las especies con flor (Sheffield, 2004). Se considera a las diferentes especies de abejas como los polinizadores claves del manzano dado sus hábitos alimenticios (Westwood, 1982; De la Cuadra, 1992; López & Sotomayor, 1992), aunque los lepidópteros, coleópteros y dípteros participan de forma

ocasional de la polinización mientras se alimentan del néctar de las flores (Barth, 1991; Viejo & Ornos, 1997).

Aunque las abejas melíferas son consideradas muy buenas polinizadoras de los manzanos, Mayer & Lunden (1980), Gil (2000), Vicens & Bosh (2000) y Thomson & Goodell (2001) detectaron que no todas las abejas que visitan las flores son igualmente eficaces en la polinización. Estos investigadores encuentran que las abejas que colectan néctar suelen extraerlo por arriba o por el costado de la flor dependiendo de qué tan cerrada sea la estructura de ésta. Cuando las abejas abordan la flor desde arriba entran en contacto con las anteras y el polen que transportan puede alcanzar el pistilo, actuando así como buenos polinizadores. En cambio, cuando las abejas aprenden a extraer el néctar por el costado de la flor no aportan nada a la polinización del cultivo. Debido a este problema Vicens & Bosh (2000) señalan que las abejas melíferas serían menos eficientes como polinizadores que otros insectos obligados a visitar las flores desde arriba.

Siguiendo las hipótesis planteadas, en este estudio se determinó la dependencia de los manzanos a la polinización entomófila, se realizó un relevamiento de insectos hallados sobre las flores y se analizó el comportamiento de pecoreo de las abejas melíferas.

## 3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.2.1 Descripción del área de estudio

El estudio se realizó durante el año 2009, en dos plantaciones de manzanos en el departamento de Canelones: uno de 0,5 ha de la variedad Cripps Pink ubicado en la estación experimental de INIA en localidad de Las Brujas (34°40' LS y 56°20' LO) (Estación 1) y otro de 1 ha. de la variedad Red Chief ubicado en la localidad de Canelón Chico (34°40' LS y 56°11' LO) (Estación 2) (Figura1). Ambas estaciones se encuentran distanciadas 15.2 km entre sí. Los árboles de ambas plantaciones tenían el mismo tamaño y edad. Las dos variedades de manzano presenta la misma morfología floral: flor blanca grande, hermafrodita, escasamente pedunculada, corola formada por cinco pétalos redondeados, cinco sépalos y varios estambres amarillos en grupos de seis formando una inflorescencia del tipo corimbo. La plantación de INIA Las Brujas se encuentra en un área con pocas plantas cultivadas y abundante floración silvestre, acompañada de una extensa zona de monte natural. En cambio, la plantación de Canelón Chico se encuentra en un entorno de chacras comerciales con montes frutales fundamentalmente.

En la Estación 2 había 6 colmenas realizando el servicio de polinización del cultivo, localizadas dentro del mismo.

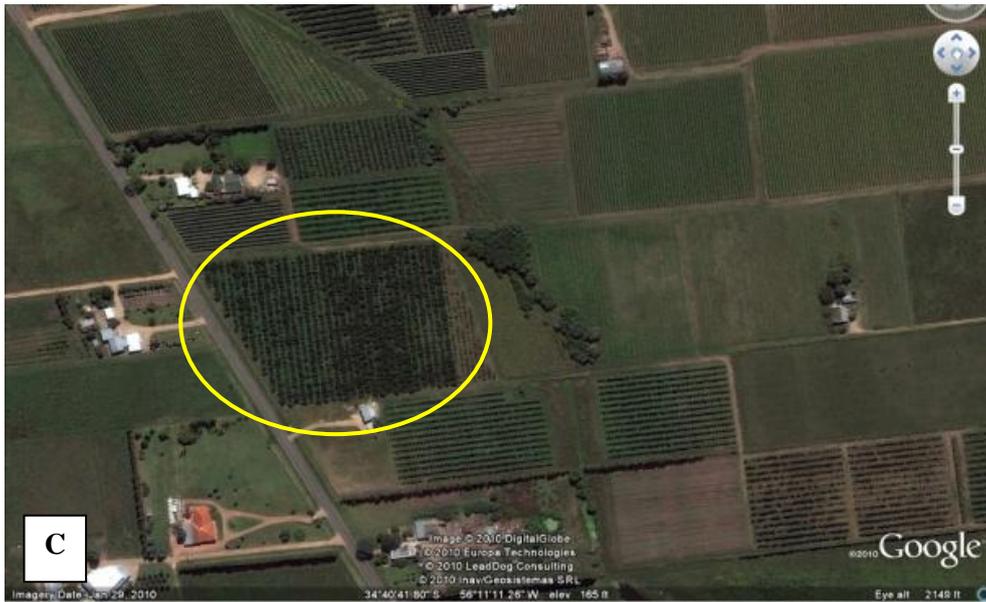


Figura 1. Ubicación de los cultivos de manzano Red Chief en Estación 2 (A y C) y Cripps Pink en Estación 1 (B y D).

### **3.2.2 Frecuencia de visitas a los cultivos**

Se tuvo en cuenta para realizar el cronograma de visitas a las estaciones, el período de floración que dura aproximadamente un mes. (Guerrero *et al.* 2006). A partir del inicio del período, las visitas se realizaron una vez por semana durante todo el período de floración. Antes de comenzar con los relevamientos se visitaron los predios para realizar los tratamientos de enmallado de las ramas en las fechas 21/9 y 27/9 para las Estaciones 1 y 2 respectivamente.

La Estación 1 fue visitada 4 veces para realizar los relevamientos, los días 25/9, 2/10, 9/10 y 16/10 mientras que la Estación 2 fue visitada 4 veces los días 3/10, 10/10, 17/10 y 24/10. Se realizaron relevamientos de insectos en las tres primeras fechas de visita, porque en la 4ª la floración había terminado. Posteriormente se asistió a ambas estaciones en las fechas 24/11 y 23/12 para retirar las mallas y evaluar la fructificación de las plantas marcadas.

### **3.2.3 Evolución de la floración**

Para determinar la evolución de la floración, en cada visita a los cultivos se inspeccionaron las ramas marcadas con libre polinización. Se registraron las yemas sin abrir, las flores abiertas y las flores apétalas. Con estos datos se determinó el porcentaje de apertura floral en la plantación. Se consideró como pico de floración, al día con mayor cantidad de flores abiertas.

### **3.2.4 Dependencia del cultivo a la polinización entomófila**

Para determinar la dependencia del cultivo a la polinización entomófila en ambas Estaciones, se procedió a cubrir flores con una malla de tul sintético blanco de 1,5 mm de perforación lo que impedía el acceso de insectos. La malla se colocó

enfundando una rama con muchas flores antes de la antesis. Esta malla no afecta la entrada de luz solar y permite el pasaje del viento y de los granos de polen que éste transporta. Se registró el número de yemas florales presentes en la rama cubierta, para seleccionar en el mismo árbol una rama con similar cantidad de flores (Figura 2). Los árboles fueron elegidos al azar de acuerdo a metodología específica (Garcés & Morales, 2000).

En la Estación 1 se cubrieron 978 flores en 10 árboles y en la Estación 2 se cubrieron 1290 flores en 10 árboles. Con este tratamiento se evitó el contacto de insectos y aves con las flores (Figura 2A).

En los mismos árboles donde se encerraron las flores se seleccionó y marcó una rama con flores, como muestra testigo, para evaluar la fructificación con libre polinización y comparar los resultados (Figura 2B). El número de flores con libre acceso de insectos en las ramas marcadas en las plantaciones de las Estaciones 1 y 2 fueron de 936 y 1302, respectivamente. El encerrado de las flores se realizó antes de la antesis y se constató que la apertura floral procediera sin inconvenientes bajo la malla, descartando del estudio aquellas flores que la tocaran y pudieran ser polinizadas a través de la misma.

Esta metodología de estudio se realizó según Delaplane *et al*, 2013.



Figura2. Flores de manzano cubiertas por una malla para excluir a los insectos polinizadores (A) y flores donde los insectos tienen libre acceso a las flores (B).

### **3.2.5 Relevamiento de insectos polinizadores en los cultivos**

Una vez comenzada la floración, se registraron los insectos que se encontraban sobre las flores en diferentes momentos del día, y si estaban en contacto con anteras y pistilos de la flor. Se observó si los insectos estaban colectando polen y/o néctar. Para ello se recorrieron tres filas del cultivo, observando al azar 400 flores por cada fila. Las observaciones se realizaron durante 60 minutos en cuatro horarios del día (9:00-10:00, 12:00-13:00, 14:00-15:00 y 16:00-17:00 hs), en ambas Estaciones de muestreo. Con ayuda de una red entomológica se colectaron los insectos, se mataron en frasco matador con acetato de etilo y se colocaron en bolsas de papel, para su posterior clasificación en el laboratorio, mediante claves de Richards & Davies (1984) y Michener (2007).

### **3.2.6 Estimación del porcentaje de cuajado de los frutos**

Luego de finalizada la floración, se quitaron las mallas. En las ramas cubiertas y con acceso a polinizadores se determinó el cuajado de los frutos como el número de frutos formados en relación al número inicial de flores:

$$\text{Cuajado (\%)} = (\text{N}^\circ \text{ de frutos} / \text{N}^\circ \text{ inicial de flores}) \times 100$$

### **3.2.7 Comportamiento de pecoreo de *A. mellifera* en el manzano**

En cada visita a los cultivos de manzano se observó el comportamiento de las abejas melíferas mientras visitaban las flores. Las observaciones se realizaron durante dos horas en la mañana (de 8:00 a 10:00 hs) y dos horas en la tarde (de 15:00 a 17:00 hs). Se registró si las abejas abordaban la flor desde arriba, tomando contacto con las anteras, o si se obtenían el néctar por el costado de la flor posándose en los pétalos y sin tocar las anteras. Se tuvo en cuenta si las abejas se encontraban colectando néctar, polen o ambos recursos. Los registros sobre el comportamiento de cada abeja se continuaban

mientras éstas se mantuviesen visibles. A partir de los registros realizados se analizaron tres aspectos diferentes del comportamiento pecoreador de las abejas.

En primer lugar se determinó la proporción de individuos que se encontraban colectando polen, néctar o polen y néctar en la mañana y en la tarde. En segundo lugar, se determinó el número de veces que las abejas que colectaban néctar, polen o polen+néctar abordaban la flor desde arriba (tocando las anteras) o desde el costado (apoyadas en los pétalos). Finalmente se estudió si las abejas durante un vuelo de pecoreo, mantenían constante la forma de abordar la flor (por arriba o por el costado) o si cambiaban de una a otra forma. En el primer caso se denominaron “vuelos constantes” y en el segundo “vuelos no constantes”. Para analizar este aspecto se consideraron arbitrariamente solo las abejas que fueron observadas pecoreando en al menos 10 flores, y las que visitaron menos de 10 flores pero que mostraron un cambio en la forma de abordarla. Se optó por este criterio conservador para no subestimar los vuelos no constantes, ya que al no poder observar las abejas pecoreando durante mucho tiempo (no más que en 20 flores) los cambios en la forma de abordar las flores durante un viaje de pecoreo puede no ser detectada.

También se determinó en abejas con vuelos no constantes que colectaban polen, néctar o polen + néctar el número promedio de transiciones de una forma a otra de abordar las flores.

### **3.2.8 Tratamiento de los datos.**

No se realizaron análisis estadísticos entre los tratamientos de libre polinización y exclusión de polinizadores, dado que los datos obtenidos fueron contundentes e idénticos para ambos cultivos. Se compararon los comportamientos registrados en los

diferentes cultivos, con  $\chi^2$ , utilizando la corrección de Yates para continuidad, siguiendo análisis realizados por Kuhn & Ambrose (1984).

También se realizó el test no paramétrico Mann-Whitney, de dos muestras independientes, en busca de diferencias entre vuelos constantes y no constantes (entre las dos variedades de manzanas), para las abejas que colectaban diferentes recursos.

Para la comparación de frecuencias de visitas de abejas a las flores, con la etapa de floración del cultivo y el momento del día se realizó  $\chi^2$  de Pearson.

### 3.3 RESULTADOS

#### 3.3.1 Evolución de floración.

La evolución de la floración observada, en cuatro días de visitas a cada una de las plantaciones mostró que el período de floración de ambas variedades es de aproximadamente 20 días (Figura3).

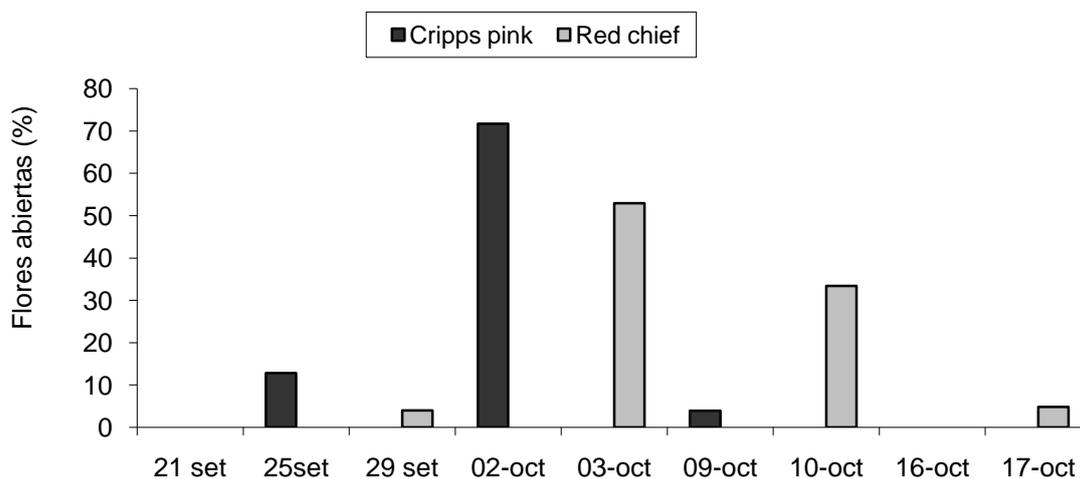


Figura3. Evolución de la floración en la Estación 1 (Cripps Pink) y Estación 2 (Red Chief).

### 3.3. 2 Dependencia del manzano a la polinización entomófila

El tratamiento de enmallar las ramas para impedir el acceso de los insectos a las flores no mostró interferencia con la normal apertura floral. Pocos días antes de que los frutos en el cultivo adquirieran las características comerciales se procedió a retirar las mallas para evaluar el cuajado de los frutos.

Tanto en los manzanos de la variedad Cripps Pink como en las variedades Red Chief no se formó ningún fruto en las ramas cubiertas por las mallas (Tabla I).

Tabla I. Porcentaje de cuajado de los frutos con y sin exclusión de insectos en los cultivos de manzanos Estaciones 1 y 2.

<b>Variedad de manzano</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>N° inicial de flores</b>	<b>N° de frutos</b>	<b>% de cuajado</b>
<b>Estación 1</b>	Flores privadas de polinizadores	978	0	0
	Cripps Pink Flores con libre polinización	936	936	100
<b>Estación 2</b>	Flores privadas de polinizadores	1290	0	0
	Red Chief Flores con libre polinización	1302	1302	100

En las ramas enmalladas, las flores no consiguieron engrosar su sistema de ovarios y se desprendieron quedando retenidas por las mallas (Figura 4). Esto no ocurrió en las ramas donde las flores podían ser visitadas por insectos polinizadores que cuajaron por completo (Figura 5). En las siguientes Figuras se muestra cómo evolucionan en el tiempo los diferentes tratamientos.

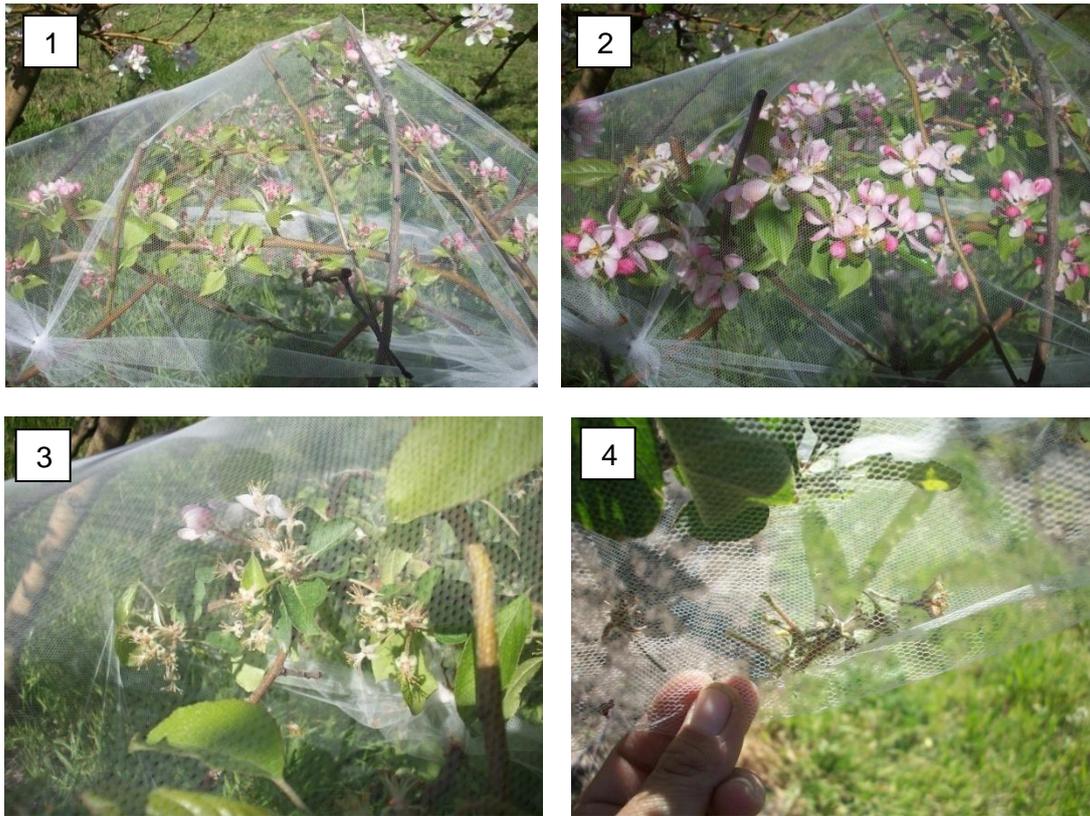


Figura 4. Evolución de las flores de manzano en las ramas con exclusión de insectos. 1- flores cubiertas antes de la antesis. 2- antesis. 3- flores apétalas después de la antesis. 4- desprendimiento de flores.

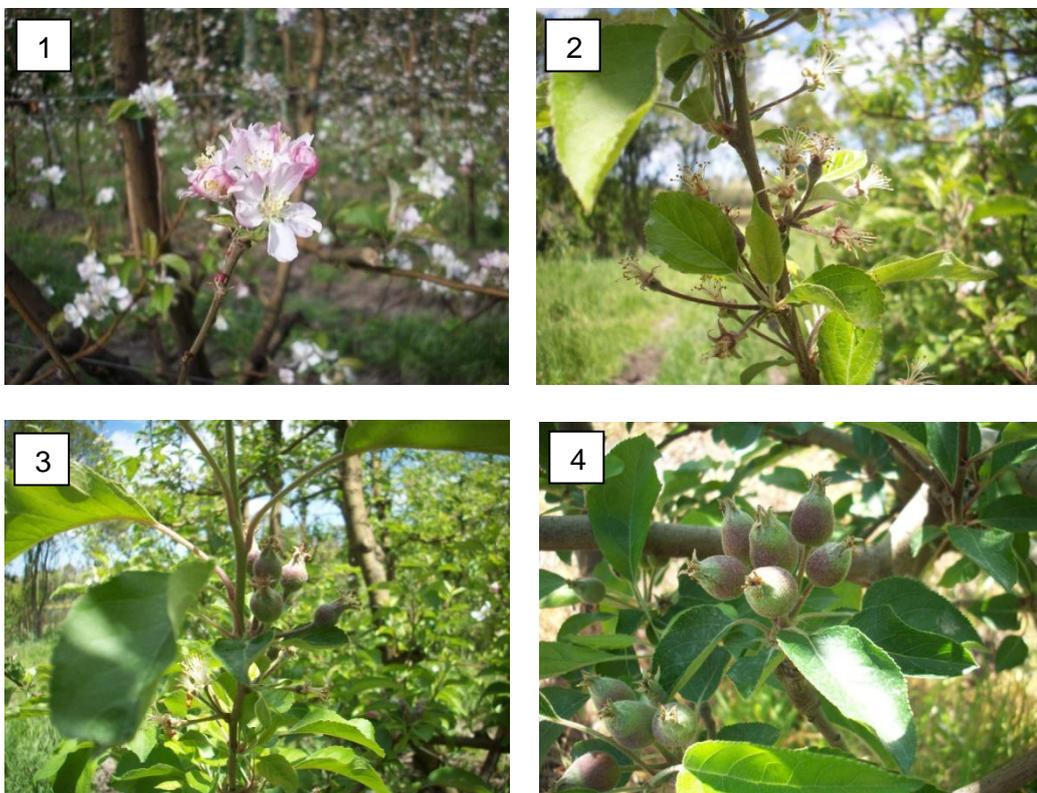


Figura 5. Evolución temporal de las flores de manzano en las ramas con libre acceso de insectos polinizadores. 1- antesis, 2 y 3- flores apétalas y con engrosamiento de ovarios, 4- frutos en desarrollo.

### 3.3.3 Relevamiento de insectos polinizadores en los cultivos

Durante todo el período de observaciones solo se encontraron abejas *A. mellifera* sobre las flores en las dos variedades de manzano, realizándose un total de 1629 registros para la Estación 1 (760, 632 y 237 en los días de muestreo a esta estación) y de 1634 para la Estación 2 (1262, 249 y 123 en los días de muestreo a esta estación).

**3.3.3.1 Distribución de las abejas durante el periodo de floración de los manzanos.** En la Estación 1 la mayor presencia de abejas melíferas ocurrió al inicio (12.8% de flores abiertas) y en el pico de la floración (71.7%), disminuyendo significativamente a la tercera parte al quedar menos de 5% de las flores abiertas. En los tres días de observación el mayor número de abejas se registró a las 14 hs (Figura 6).

En la Estación 2 el mayor registro de abejas coincidió con el pico de floración (52.9% de flores abiertas) y disminuyó significativamente de forma marcada cuando la floración estaba en 33 y 5% (Figura 3). En esta variedad las abejas se concentraban en mayor proporción a las 14 hs en el pico de la floración y a las 12 hs en el registro siguiente. En el último registro, al finalizar la floración, el número de abejas presentes a las 12 y 14 hs fue similar (Figura 6).

Para la variedad CrippsPink, en las distintas etapas de floración, la frecuencias de visitas de abejas no son las mismas ( $P < 0.001$ ), tampoco lo son en los distintos horarios del día ( $P < 0.001$ ). Lo mismo sucede para la variedad Red Chief, tanto para las distintas fechas ( $P < 0.001$ ) como en los distintos horarios ( $P < 0.001$ ).

Por otra parte en la variedad Cripps Pink la variación de visitas según etapa de floración (fecha) y el momento del día (horario) no son independientes ( $P < 0.001$ ), es decir, la cantidad visitas en las distintas etapas de floración varía con el horario. Lo mismo ocurre para la variedad Red Chief ( $P < 0.001$ ).

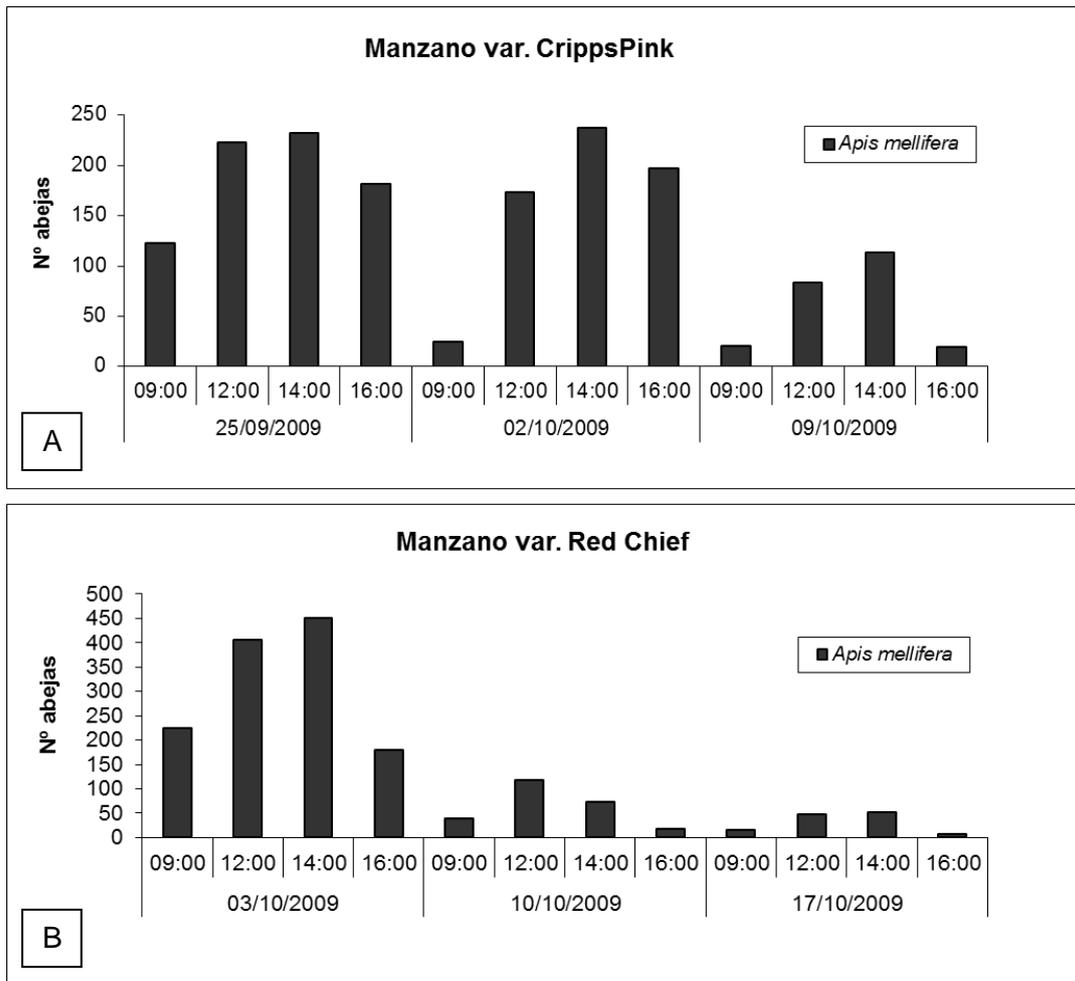


Figura 6. Abundancia de abejas melíferas observada en diferentes fechas y horarios en la Estación 1(A) y Estación 2 (B).

### 3.3.4 Comportamiento de pecoreo de *A. mellifera* en el manzano

De la observación de las abejas que se encontraban pecoreando en los manzanos de ambas Estaciones, se determinó la proporción de individuos que se hallaban colectando polen, néctar o polen+néctar en la mañana y en la tarde (Figuras 7 y 8). Las abejas colectan los dos recursos, tanto en la mañana como en la tarde, pero considerando de manera conjunta las dos plantaciones de manzanos se encontró que la proporción entre las abejas que colectaban polen, néctar y polen+néctar, varió significativamente entre la mañana y la tarde en 5 de los 6 días registrados; el día 17 de octubre no se encontraron diferencias en la plantación de la Estación 2. Con excepción

del día 25 de setiembre en la plantación de la Estación 1, en los demás días se constató que las abejas prefieren coleccionar polen de mañana y néctar en la tarde. Esta tendencia fue muy evidente al analizar los registros agrupados de cada plantación, especialmente en la plantación de la Estación 2.

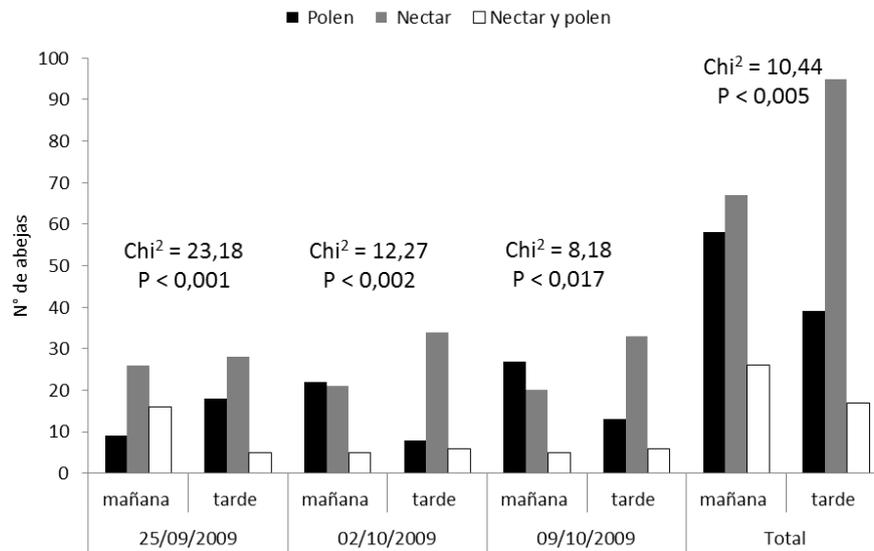


Figura 7. Número de abejas que coleccionaron polen, néctar y néctar+polen durante la mañana y a tarde en las flores de manzano de Estación 1.

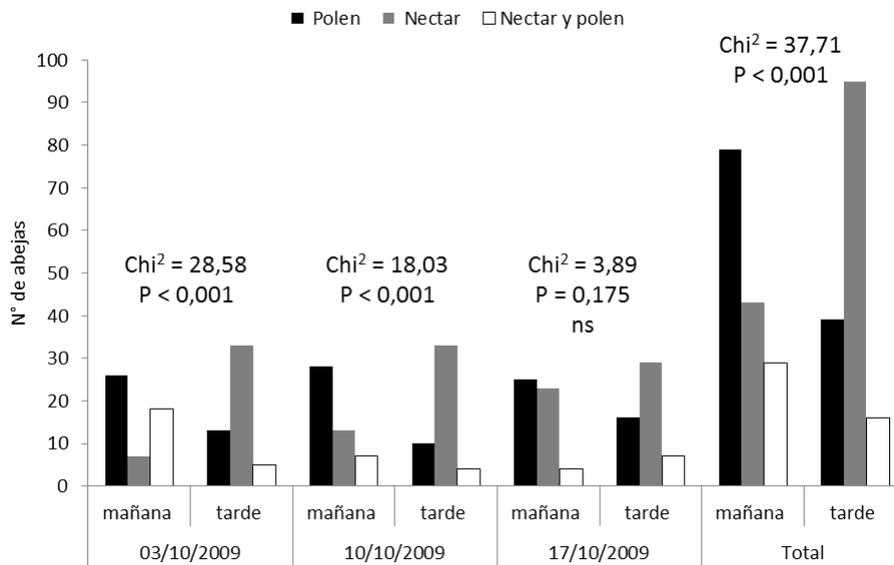


Figura8. Número de abejas que coleccionaron polen, néctar y néctar+polen durante la mañana y la tarde en las flores de manzano de la Estación 2.

Durante el seguimiento del vuelo de pecoreo de las abejas se constató que éstas eran capaces de abordar la flor desde arriba, tomando contacto con las anteras, o desde el costado apoyándose en los pétalos, y que una abeja durante un vuelo de pecoreo podía pasar de una forma a otra de acceder a la flor. La proporción de abejas que abordaban la flor desde arriba o desde el costado varió significativamente según estuviesen colectando polen, néctar o néctar+polen (Figuras 9 y 10). En las dos plantaciones de manzanos se verificó que mientras las abejas que colectaban néctar y néctar+polen abordaban las flores por arriba y por el costado en proporciones no muy diferentes, las abejas que colectaban polen accedían a la flor casi siempre desde arriba.

Otro resultado es que en términos generales el comportamiento de las abejas no varió entre las horas de la mañana y la tarde, aunque se percibió una disminución en el número de las abejas que cargaban polen y abordaban la flor desde arriba (Figuras 7 y 8).

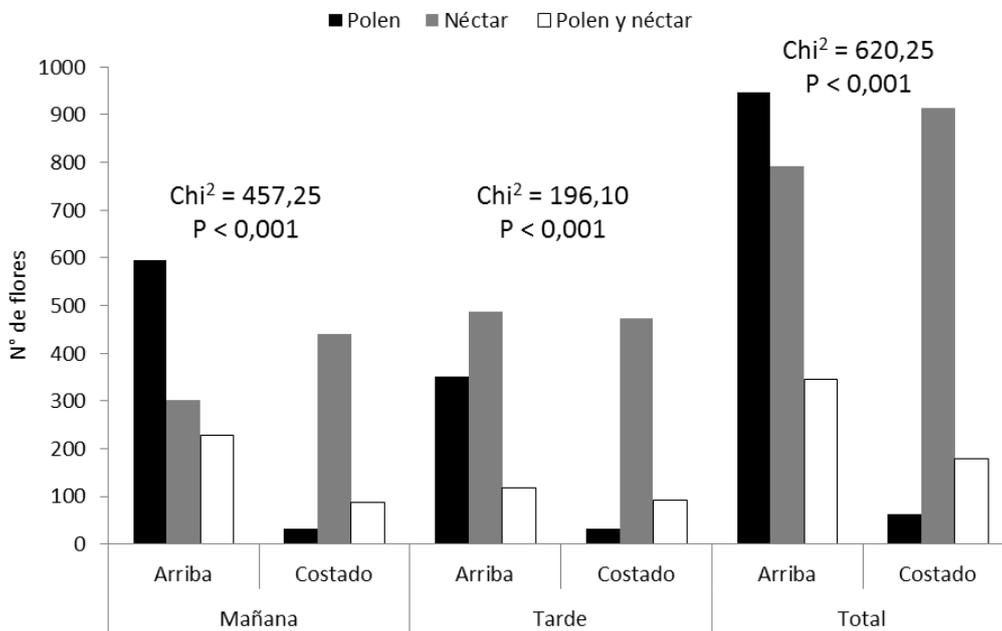


Figura 9. Número de flores que fueron abordadas por arriba o por el costado por abejas que cargaban polen, néctar+polen y néctar en los manzanos de la Estación 1.

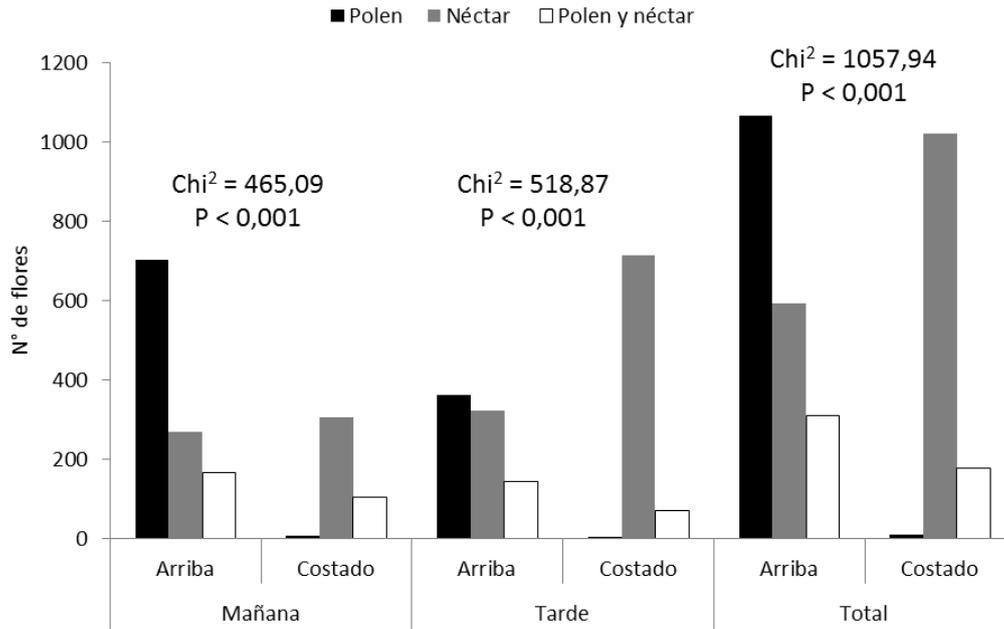


Figura 10. Número de flores que fueron abordadas por arriba o por el costado por abejas que cargaban polen, néctar+polen y néctar en los manzanos de la Estación 2.

Se verificó que algunas abejas, durante el vuelo de pecoreo abordaban las flores solamente por arriba o solamente por el costado (vuelos constantes), mientras que otras podían cambiar entre ambas formas (vuelos no constantes) (Figura 11).

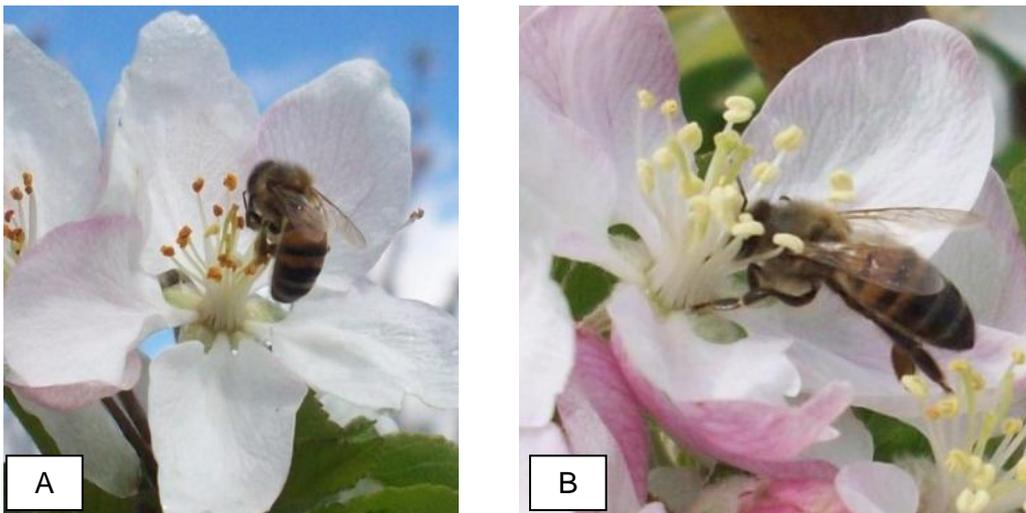


Figura 11. Abejas posadas sobre la flor del manzano. A) Abeja abordando la flor desde arriba tomando contacto con las anteras. Derecha; abeja abordando la flor desde el costado apoyada en los pétalos.

La proporción de vuelos constantes y no constantes varió significativamente entre las abejas según el recurso colectado, siendo las que colectaban polen las que presentaron más vuelos constantes, en ambas Estaciones.

El comportamiento de las abejas en ambos cultivos de manzanas mostró diferencias al comparar las abejas que colectaban los diferentes recursos, encontrándose en la Estación 1 mayor proporción de vuelos no constantes. Esto ocurrió entre las abejas que colectaban polen ( $\text{Chi}^2 = 6,59$ ; gl 1;  $P = 0,010$ ) y néctar ( $\text{Chi}^2 = 4,256$ ; gl 1;  $P = 0,039$ ), pero no entre las que colectaban néctar+polen ( $\text{Chi}^2 = 0,859$ ; gl 1;  $P = 0,354$ ) (Figuras 12 y 13).

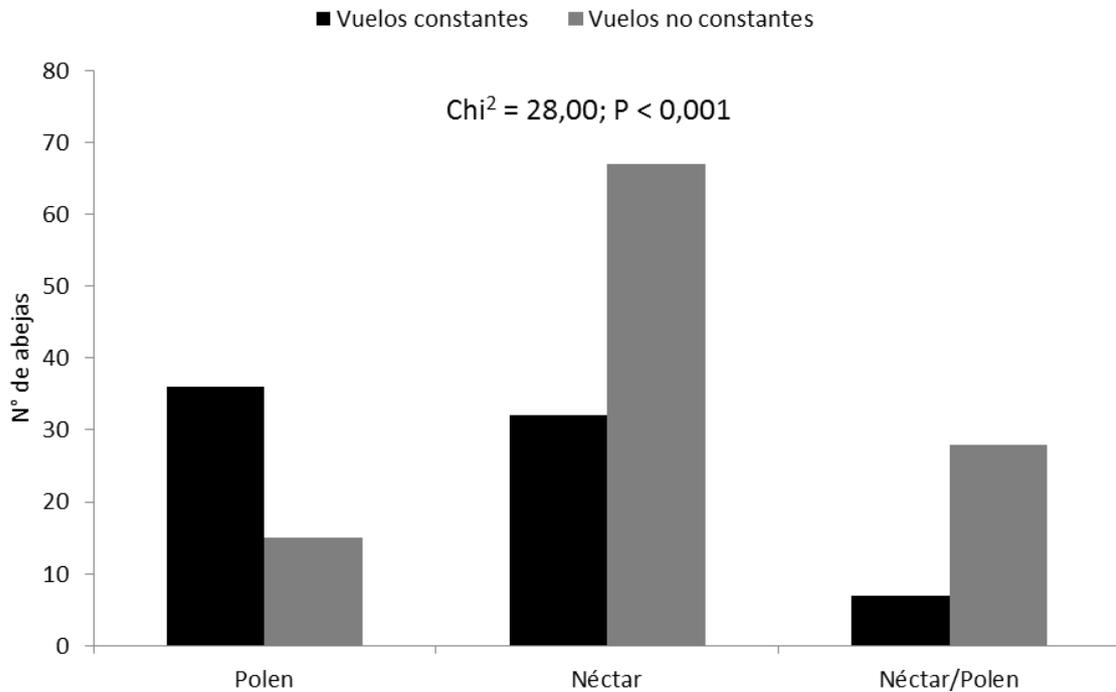


Figura 12. Número de abejas que durante su vuelo de pecoreo abordan las flores de una sola forma (por arriba o por el costado, constantes) o cambiando de una a otra cuando colectan polen, néctar y néctar+polen en las flores (no constantes) de las Estacion1.

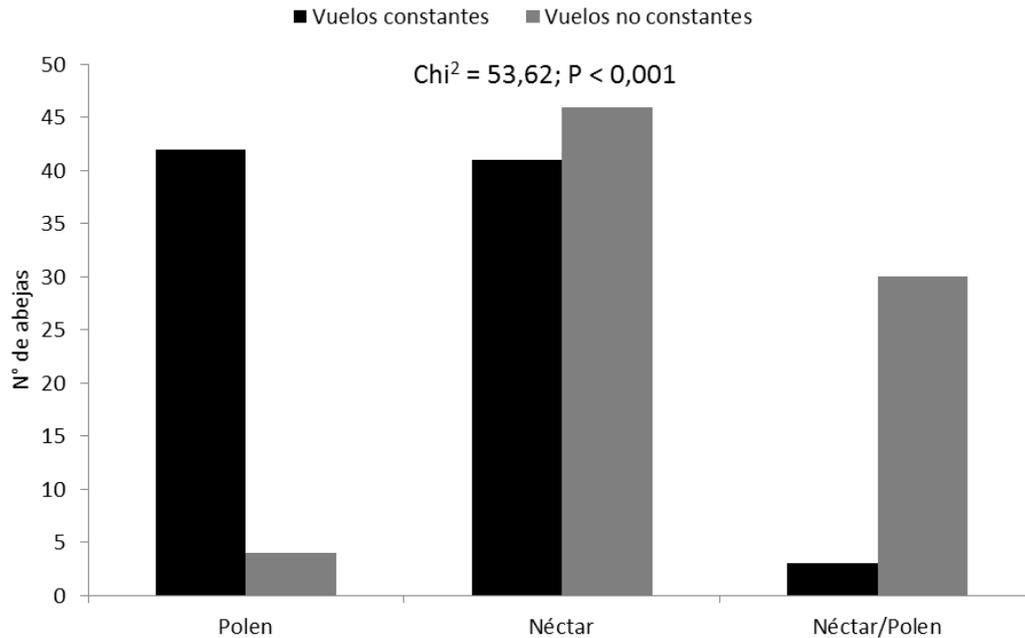


Figura13. Número de abejas que durante su vuelo de pecoreo abordan las flores de una sola forma (por arriba o por el costado) o cambiando de una a otra cuando colectan polen, néctar y néctar+polen en las flores de las Estación 2.

Como era de esperar de acuerdo a los resultados sobre las diferencias entre vuelos constantes y no constantes entre las dos variedades de manzanas, en las manzanas Cripps Pink (Estación 1) la frecuencia de transiciones fue elevada (superior a 0,35 en promedio), sin encontrar diferencias significativas para el test de Mann Whitney entre las abejas que colectaban diferentes recursos (polen vs. néctar:  $U = 485,5$ ;  $P = 0,776$ ; polen vs. néctar + polen:  $U = 190$ ;  $P = 0,619$ ; néctar vs. néctar + polen:  $U = 885,5$ ;  $P = 0,594$ ). En cambio, en las manzanas Red Chief la frecuencia de transiciones fue más baja (0,23 en promedio) y se encontraron diferencias significativas entre las abejas que colectaban polen y las que colectaban polen + néctar ( $U = 23,5$ ;  $P = 0,054$ ) pero no entre las otras comparaciones (polen vs. néctar:  $U = 50,5$ ;  $P = 0,142$ ; néctar vs. néctar + polen:  $U = 593,5$ ;  $P = 0,307$ ).

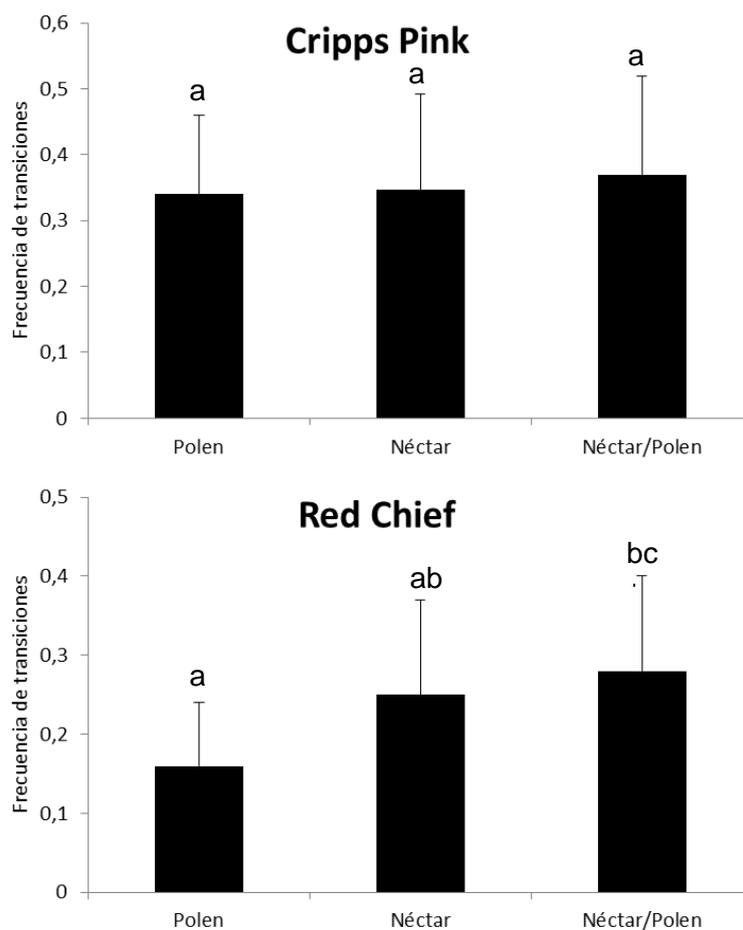


Figura 14. Frecuencia de transiciones entre las formas de abordar las flores (por arriba o por el costado) en abejas que realizaron vuelos no constantes cuando colectaban polen, néctar y néctar+polen, en los manzanos de las Estaciones 1 y 2. Las letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) para el test de Mann Whitney.

### 3.4 DISCUSIÓN

#### 3.4.1 Evolución de floración

Con respecto a la evolución de las floraciones para ambas Estaciones, se observó un desfase entre ellas de 9 días aproximadamente, que pudo deberse a varios factores como fenología de cada variedad, factores climáticos o manejos del productor (por ejemplo, momento de la poda).

### **3.4. 2 Dependencia del manzano a la polinización entomófila**

Los resultados mostraron la dependencia total del manzano a la polinización entomófila. Pese a que la malla no impedía el transporte de polen por acción del viento, la gravedad o la lluvia, estos mecanismos de transferencia fueron completamente ineficaces en la fertilización de los óvulos. Los resultados obtenidos coinciden con los reportados por Morse & Calderone (2000), quienes proponen que el cultivo de manzana depende en un 100% de la presencia de insectos en el cultivo.

### **3.4.3 Relevamiento de insectos polinizadores en los cultivos**

También Morse & Calderone (2000) hallaron únicamente abejas melíferas en un cultivo de manzanos en Estados Unidos. Sin embargo, en otros estudios se han observado varias especies de insectos visitando las flores de manzano. Así, Gardner & Ascher (2006) en Estados Unidos observaron en las flores de manzano 28 especies de abejas nativas, aunque las abejas melíferas eran los insectos más frecuentes. Janik (2002) reportó que en Asia Central existen al menos 5 especies de abejas nativas que contribuyen a la polinización del manzano. Vicens & Bosch (2000) proponen que la abeja nativa *Osmia cornuta*, perteneciente a la familia de los Megachilidos, es eficiente polinizando las flores del manzano. La baja temperatura que normalmente se presenta en esta región en setiembre y octubre podría explicar la falta de diversidad de insectos en el cultivo. Observaciones de la autora registran que las abejas nativas en Uruguay recién salen de la hibernación a partir de octubre, aunque este hecho varía mucho con la temperatura, que es muy cambiante en Uruguay en primavera.

### **3.4.3.1 Distribución de las abejas durante el periodo de floración de los manzanos**

La presencia de las abejas en un cultivo a lo largo de un día depende fundamentalmente de las condiciones climáticas, la temperatura ambiente, la oferta de néctar y el grado de competencia con otros recursos botánicos (Seeley, 1995). Este último aspecto puede explicar las diferencias en los dos cultivos en cuanto a la presencia de abejas, en relación a la disponibilidad de flores. La fuerte presencia de abejas en la Estación 1 al comienzo de la floración, puede deberse a la falta de otras ofertas florales, por el contrario, la reducción de abejas en la Estación 2 cuando aún quedaban más de 30% de las flores abiertas puede corresponder a la presencia de otros recursos valiosos mas atractivos.

### **3.4.4 Comportamiento de pecoreo de *A. mellifera* en el manzano**

Este estudio ha mostrado que las abejas prefieren coleccionar polen de mañana y néctar en la tarde. En este sentido Santos (2009) estudió el ingreso de polen en las colmenas a lo largo del día encontrando una tendencia muy clara de las abejas melíferas a coleccionar polen en la mañana, tal como se encontró en este estudio. También Salvarrey (2009) encontró en los abejorros *Bombus atratus* que el mayor ingreso de polen en las colonias ocurrió en la mañana. Así, la mayor colecta de polen durante la mañana puede obedecer a necesidades de la colonia (aunque tanto abejas como abejorros almacenan polen) o a que el recurso es más fácil de extraer de las flores en las primeras horas del día.

Winston (1987), en base a trabajos que determinan la proporción de abejas que coleccionan polen y néctar, establece que en general, éstas se dividen en un 25% que coleccionan polen, 58% que coleccionan néctar y 17% que coleccionan néctar + polen. Considerando el total de abejas observadas sobre este cultivo, se encontró que en la

plantación de INIA Las Brujas el 32% colectaban polen, el 54% colectaba néctar y el 14% colectaba néctar + polen, mientras que en el cultivo de Canelón Chico el 39% colectaban polen, el 46% colectaba néctar y el 15% colectaba néctar + polen. De este modo, en las abejas que pecorean sobre las flores de los manzanos la división de trabajo entre las obreras que colectan los diferentes recursos no se ajustaría a la propuesta por Winston (1987), sino que estarían más representadas las abejas que colectan polen y menos las que colectan néctar. Aunque en realidad es mayor el número de abejas que colecta néctar, es posible que tanto los manzanos de las variedades Cripps Pink como Red Chief, especialmente la última, sean recursos de buen valor polinífero, más que nectarífero para las abejas melíferas. Al mismo tiempo, la proporción de abejas que colectan polen, néctar y néctar+ polen es altamente variable dependiendo del momento de desarrollo de la colonia, la disponibilidad de ambos recursos en el ambiente, las condiciones climáticas y factores genéticos de las abejas, entre otros (Hellmich *et al.*, 1985; Winston, 1987; Seeley 1995). Para determinar fehacientemente si los manzanos constituyen un recurso polinífero importante para las abejas hay que observar en qué proporción las abejas colectan néctar y polen de otras especies botánicas durante el periodo de floración de los manzanos, tomando muestras desde las colmenas.

En las dos plantaciones de manzanos se verificó que mientras las abejas que colectaban néctar y néctar+polen abordaban las flores por arriba y por el costado en proporciones similares, las que colectaban polen lo hacían por arriba preferentemente. Esta diferencia es esperable ya que las abejas que colectan polen no tienen otra opción que entrar en contacto con las anteras para que éste se pegue en el cuerpo y luego sea juntado en las corbículas del tercer par de patas.

Estudios sobre comportamiento de abejas que visitan flores de manzano reportan que las abejas pueden posarse arriba de la flor sobre los estambres (*topworking*) o desde

el costado apoyándose en los pétalos (sideworking) (Kuhm & Ambrose, 1984; Mayer & Lunden, 1988; Benedek & Nyéki, 1996; Thomson & Goodell, 2001). La visita a las flores por el costado podría estar asociada a la estructura de la flor, específicamente al largo y dureza de los estambres (Thomson & Goodell, 2001). Así, la proporción de abejas que se posan en la flor por arriba o por el costado varía claramente con la variedad de manzanas (Mayer & Lunden, 1988; Thomson & Goodell, 2001). Mayer & Lunden, (1988) compararon la forma en que las abejas abordan las flores en las variedades de manzanos Manchuria y Red Delicious encontrando diferencias importantes en el porcentaje de abejas que se posan por el costado (2 y 56% para la primera y segunda variedad, respectivamente). Thomson & Goodell (2001) encontraron que las abejas que abordan las flores lateralmente remueven menos polen y depositan menos polen en el pistilo que las que lo hacen por arriba, confirmando la limitada incidencia de este comportamiento en la polinización de los manzanos. Ellos analizaron el comportamiento de las abejas en cuatro variedades de manzana encontrando diferencias significativas, siendo la variedad Red Delicious la que recibió más visitas de abejas por el costado (32%). La alta proporción de abejas que llegan a la flor sin tocar las estructuras reproductivas puede ser la causa de la dificultad para polinizar esta variedad de manzana (Mayer & Lunden, 1988; Thomson & Goodell, 2001). Por ello que se ha intentado incluir entre los polinizadores a megachílidos del género *Osmia* (Kuhn & Ambrose, 1984). En nuestro estudio el número de abejas que abordó la flor por el costado fue muy importante en ambas variedades de manzana: 36% en la variedad Cripps Pink y 38% en la variedad Red Chief.

Con respecto a que el comportamiento de las abejas varió en la tarde comparado con la mañana, se propone que este cambio obedece a que el número de abejas que colectan polen es mayor en la mañana que en la tarde. (Figuras 7 y 8). Thomson &

Goodell (2001) también hallaron que el número de abejas que se posan en el costado de la flor era mayor en la tarde que en la mañana en la variedad Starkrimson, pero no en la Red Delicious.

La proporción de vuelos constantes y no constantes varió entre las abejas según el recurso colectado, siendo las que colectaban polen las que presentaron más vuelos constantes, esto se verificó en los cultivos de ambas Estaciones. Este resultado es previsible ya que las abejas solo pueden extraer el polen si entran en contacto con las anteras, para lo cual deben abordar las flores desde arriba. En cambio, las colectoras de néctar pueden llegar a los nectarios ubicándose tanto arriba como en el costado de la flor.

Las diferencias de comportamiento de las abejas en las dos variedades pueden explicarse parcialmente por el hecho de que en la variedad Red Chief se encontraron más abejas colectando polen que en la variedad Cripps Pink (Figuras 7 y 8).

Pese a que existen numerosos estudios del comportamiento pecoreador de abejas melíferas que describen las diferentes formas de abordar una flor (revisados en Winston, 1987), no se habían realizado estudios sobre la capacidad de las abejas para cambiar la forma de posarse sobre las flores durante un viaje de pecoreo.

Al analizar únicamente las transiciones que presentaron las abejas que pudieron ser observadas pecoreando en más de 10 flores y en aquellas que fueron seguidas menos tiempo pero mostraron transiciones en su forma de abordar la flor, se encontró que la frecuencia de transiciones fue muy importante (Figura 14). La capacidad de las abejas de cambiar la forma de abordar la flor de manzana durante un viaje de pecoreo, teniendo en cuenta el recurso alimenticio que está colectando, es un tema de mucha importancia para el estudio del comportamiento de pecoreo en insectos polinizadores. Sería interesante determinar, si desde el punto de vista del insecto el abordaje a una flor de

dos maneras muy diferentes es equivalente a llegar a dos flores diferentes. Cuando los insectos pecoreadores disponen de un parche con diferentes ofertas florales, algunas especies como las abejas melíferas muestran una constancia casi total respecto a una especie durante el vuelo de forrajeo mientras que otras, como los abejorros, muestran baja constancia, visitando más de una especie floral durante un vuelo (Grüter & Ratnieks, 2011). La constancia floral de los insectos polinizadores es un tema de amplio debate en Ecología del Comportamiento y se han postulado varias hipótesis que se enmarcan dentro de un esquema de forrajeo adaptativo o dentro de limitaciones cognitivas de los insectos (Grüter & Ratnieks, 2011).

### **3.5 CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS**

Se encontró que en los manzanos la formación de frutos sólo es posible si las flores son visitadas por insectos. En las ramas con flores excluidas de los insectos no se obtuvieron frutos. Este aspecto es clave desde el punto de vista comercial.

Por otro lado, los únicos insectos observados en las flores fueron las abejas melíferas. Los dos resultados anteriores muestran que la producción de manzanas en Uruguay (al menos en el departamento de Canelones, máximo productor de esta fruta) sólo es viable si están presentes las abejas melíferas. Actualmente los productores de manzanas suelen contratar servicios de polinización a los apicultores para tener una cosecha abundante y frutos bien conformados. De todos modos, el uso de insecticidas en los árboles suelen perjudicar a las abejas generando conflicto entre ambas producciones agropecuarias, cuando no se establecen pautas claras sobre este aspecto. La pérdida de colonias de abejas melíferas silvestres constatada en los últimos años debido a diferentes factores, especialmente por problemas sanitarios, lleva a que los

productores deban recurrir cada vez más a los apicultores para contar con abejas en sus cultivos.

El estudio del comportamiento pecoreador de las abejas sobre las flores de los dos cultivos de manzanos mostró cómo las abejas pueden acceder a las flores por arriba, contactando las anteras, o por el costado apoyándose en los pétalos. La proporción de abejas que se posaba sobre los pétalos fue muy elevada (37% en promedio) y puede considerarse que aportaron muy poco a la polinización de los manzanos. Por el contrario, las abejas que se encontraban colectando polen casi siempre abordaban la flor desde arriba para poder acceder al recurso. Durante la colecta liberan mucho polen de las anteras que luego es llevado en su cuerpo a otras flores por lo que seguramente estas abejas sean las que mejor contribuyen a la polinización.

El incremento de abejas colectoras de polen es posible con manejos de las colmenas (por ej, agregando panales con larvas, colocando trampas cazapolen o alimentando con jarabe de azúcar) y puede ser una alternativa de manejo de los apiarios para mejorar la capacidad polinizadora de las abejas.

Finalmente, el estudio de los vuelos de pecoreo constantes y no constantes de las abejas melíferas en las flores de manzano puede constituir un buen modelo para estudios fundamentales sobre capacidades cognitivas, aprendizaje y el valor adaptativo de abordar de dos formas flores con la misma estructura durante un vuelo de pecoreo. Las abejas melíferas pecoreando las flores de diferentes especies de manzano podrían constituir un modelo adecuado para aportar al debate sobre el estudio de la constancia floral, en este caso analizando las diferentes formas de abordar un solo tipo de flor.

## CAPITULO 4

### DEPENDENCIA A LA POLINIZACION ENTOMÓFILA Y RELEVAMIENTO DE LOS INSECTOS POLINIZADORES EN GUAYABOS *Acca sellowiana* (Berg.) Burret: MYRTACEAE

#### 4.1 INTRODUCCION

Los frutos de especies nativas con propiedades nutritivas y sensoriales como color, aroma y sabor vienen siendo evaluados comercialmente en Uruguay, entre ellos se destaca el Guayabo del País (*Acca sellowiana*: Myrtaceae), por sus propiedades antioxidantes. (Danner *et al.*, 2010; Feippe *et al.*, 2011).

Los guayabos poseen dos variedades botánicas bien marcadas y diferenciadas con centros de dispersión diferentes. La variedad “Brasil” tiene su centro de dispersión en las sierras del nordeste de los estados brasileros de Río Grande del Sur y de Santa Catarina. La variedad “Uruguay” presenta su centro de dispersión en el sudeste del estado de Rio Grande del Sur y las sierras del sur y norte de Uruguay, y es la única que está presente en nuestro país (Ducroquet, 2000; Rivas *et al.*, 2007).

Por ser una especie nativa, se encuentra mucho material silvestre en todo el territorio con características genotípicas y fenotípicas diferentes (Vignale & Bisio, 2005). En Uruguay se están llevando adelante estudios para identificar las diferentes variedades con el objetivo de producirlas comercialmente (Lombardo *et al.*, 2010; Feippe *et al.*, 2011). Las variedades uruguayas son reconocidas internacionalmente por su valor como especie frutal y ornamental, cultivándose en diversas partes del mundo

como en Estados Unidos, Japón y Nueva Zelanda (Amarante *et al.*, 2008; Stewart & Craig, 1989).

En tal sentido, en el Instituto de Investigación Agropecuaria (INIA) y en la Facultad de Agronomía existen programas para estudiar diferentes variedades, tratando de definir cuál es la más apta comercialmente para reproducirla mediante injertos. Se ha observado que hay plantas que fructifican más que otras, unas que son autocompatibles y otras que son autoincompatibles e incluso plantas que florecen en diferentes épocas del año (Lombardo *et al.*, 2010). Estos aspectos son importantes en los estudios de polinización de esta planta.

El guayabo presenta flores hermafroditas, con cuatro sépalos verdosos y tomentosos y 4 a 5 pétalos blancos carnosos, rojizos en su envés, con numerosos estambres (Ducroquet & Hickel, 1991; Roig, 1992). Se ha demostrado que la fecundación cruzada asegura una mayor cantidad y calidad de frutos (Patterson, 1990, Lombardo *et al.*, 2010).

La flor de guayabo también es definida como hermafrodita y longistilada con tendencia a la dicogamia, por la característica de que el estigma se vuelve receptivo 24 horas antes de la dehiscencia de las anteras, y puede permanecer receptivo hasta por 10 horas post-dehiscencia. (Stewart & Craig, 1987; Lombardo *et al.*, 2010). Ducroquet *et al.* (2000) confirman la existencia de barreras fisiológicas que hacen que esta especie sea predominantemente alógama y Dettori & Palombi (2000) demuestran la existencia de una barrera de incompatibilidad en el ovario. Por otro lado, Finardi *et al.* (2002) evaluaron la fructificación del guayabo y encontraron autoincompatibilidad, por lo que sugiere la necesidad de polinización cruzada entre plantas genéticamente diferentes para la producción de frutos.

Ducroquet *et al.* (2000) estimaron que cerca del 25% del cuajado de frutos puede ser debido a la polinización entomófila, señalando que otros vectores pueden ser físicos o biológicos. El viento puede intervenir en la polinización, aunque no en gran medida (Degenhardt *et al.*, 2001). También se ha atribuido mucha importancia a varias aves como excelentes vectores, llevando granos de polen de flor en flor asegurando la polinización cruzada (Pepone, 1912; Ducroquet & Hickel, 1997; Degenhardt *et al.*, 2001). Estos autores proponen que atendiendo a la arquitectura de la flor del guayabo, las aves que visitan las mismas para alimentarse de sus pétalos dulces, se ensucian las plumas de la cabeza con polen que es transportado a la siguiente flor cuando el ave sigue en busca de alimento. Este aspecto es discutido por Patterson (1989), quien pone en duda la importancia de las aves como buenos vectores de polen, dado que ha confirmado que con la polinización manual se obtienen frutos con mejores características comerciales que las obtenidas por polinización de aves.

En Uruguay las aves no son avistadas comúnmente en los cultivos de guayabos (García F., comunicación personal). En cambio, se observaron una gran variedad de insectos sobre las flores de guayabo, destacándose entre ellos los abejorros. Estos insectos mejoran el tamaño, peso y uniformidad de los frutos (Lombardo *et al.*, 2010).

Siguiendo con las hipótesis planteadas, los objetivos de este estudio fueron determinar en qué medida la producción de frutos de los guayabos dependen de la polinización entomófila, e identificar los insectos presentes en las flores como potenciales polinizadores.

## 4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.2.1 Descripción del área de estudio

El presente estudio se realizó en 2009 y 2010. En 2009 se trabajó en un cultivo de guayabos ubicado en la “Estación Experimental San Antonio” de la Facultad de Agronomía, Salto (Estación 1) (Lat.: 31°19`S; Long: 57°41`W) y en otro cultivo ubicado en INIA Las Brujas, Canelones (Estación 2) (Lat.: 34°40`S; Long: 56°20`W). Ambos cultivos estaban constituidos por árboles juveniles. En la Estación 1 se contaba con 60 árboles de mayor tamaño que los presentes en la Estación 2 con 50 árboles (Figura1).

Se seleccionaron también 15 árboles ubicados en parques y jardines de Salto (Estación 3) (Lat.:31°22'S; Long.:57°51'W), para estudiar únicamente la dependencia de estos árboles a la polinización entomófila y no se hizo sobre ellos el relevamiento de polinizadores. Esto se realizó con el objetivo de cubrir una mayor cantidad de variantes genéticas.

En 2010 los estudios se hicieron en la Estación 2 y en tres árboles silvestres aislados entre sí, ubicados en parques privados y municipales de la ciudad de Sauce – Canelones (Estación 4) (Lat.:34°38' S; Long.: 56° 3' W).



Figura1. Plantaciones de guayabos utilizadas en los estudios. A) Estación Experimental de la Facultad de Agronomía-Salto (Estación 1). B) INIA Las Brujas –Canelones (Estación 2).

#### **4.2.2 Frecuencia de visitas a los cultivos**

Se tuvo en cuenta para realizar el cronograma de visitas a las estaciones, el período de floración de esta especie que dura aproximadamente un mes (Rivas *et al.* 2007, Stewart & Craig 1989; Roig, 1992). A partir del inicio del periodo, las visitas se realizaron una vez por semana durante todo el periodo de floración.

En 2009, la Estación 1 fue visitada 3 veces (los días 13, 20 y 27 de noviembre), mientras que la Estación 2 fue visitada 4 veces (los días 7, 16 y 25 de noviembre y el 2 de diciembre). En la Estación 3 no se hicieron relevamientos de insectos.

En 2010, la Estación 2 fue visitada 5 veces (los días 30 de octubre y 6,13, 20 y 27 de noviembre), al igual que la Estación 4 (5 veces) (los días 28 de octubre y 4, 11, 18 y 25 de noviembre).

#### **4.2.3 Evolución de la floración**

En cada visita a los cultivos se registró la cantidad total de flores abiertas en los estadios F1 a F3, de acuerdo a la clasificación de Ducroquet & Hickel (1991) (Figura2), para relacionar el pico de floración (momento de máxima cantidad de flores abiertas en éstos estadios) con abundancia de insectos sobre las flores en el día de muestreo. En las estaciones 1 y 2 se contaron las flores en todos los árboles presentes, mientras que en la Estación 4 se contabilizaron las flores presentes en 1m<sup>2</sup> del árbol, con la ayuda de un marco de varillas de 1m de lado.

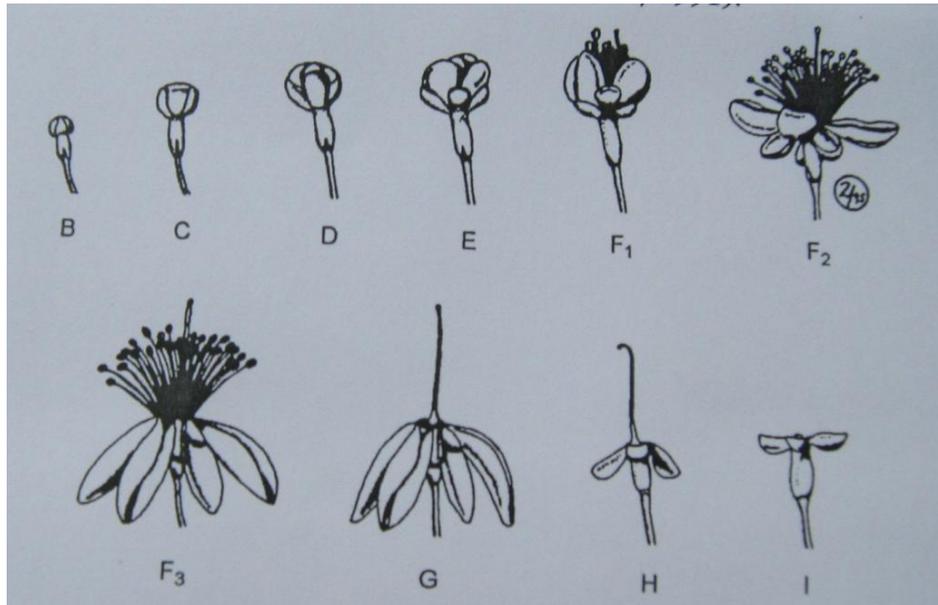


Figura2. Estadios fenológicos de la flor del guayabo. Tomado de Ducroquet & Hickel (1991).

#### 4.2.4 Dependencia del cultivo a la polinización entomófila

Para determinar la dependencia del cultivo a la polinización entomófila se procedió a cubrir las ramas con flores en los estadios B-D de acuerdo a la clasificación de Ducroquet & Hickel (1991), con una malla de tul sintético de 1,5 mm de perforación. El tul utilizado permite la entrada del viento y de granos de polen transportados por el mismo. Además, la luz solar entra sin inconvenientes por la malla sin perjudicar la normal antesis de las flores. Los árboles fueron elegidos al azar y cubiertos de acuerdo a metodologías probadas en cultivos de guayabos (Lombardo *et al* ,2010; Anderson, 2003; Stewart & Craig, 1989) (Figura3).

En 2009 se cubrieron, 385 flores de 5 árboles de la Estación 1, 90 flores de 6 árboles en la Estación 2 y 605 flores en 15 árboles de la Estación 3. Con este tratamiento se evitó el contacto de insectos y aves con las flores.

En los mismos árboles donde se encerraron las flores se seleccionó y marcó una rama con flores, como muestra testigo, para evaluar la fructificación con libre polinización (Figura3), y comparar los resultados. El número de flores con libre acceso

de insectos en las ramas marcadas en las plantaciones de las Estaciones 1, 2 y 3 fueron de 193, 83 y 319, respectivamente. El encerrado de las flores se realizó antes de la antesis y se constató que la apertura floral procediera sin inconvenientes bajo la malla, descartando del estudio aquellas flores que la tocaran y pudieran ser polinizadas a través de la misma. Para el muestreo se siguió la metodología de Delaplane *et al* (2013)



Figura 3. A) ramas con flores encerradas con una malla para excluir a los polinizadores. B) ramas con flores con libre acceso de polinizadores.

En 2010 se procedió igual que en el año anterior, cubriendo un total de 75 flores en 6 árboles de la Estación 2 y 214 flores en 3 árboles de la Estación 4. El número de flores con libre acceso de polinizadores en Estación 2 y 4 fue de 76 y 210, respectivamente.

Luego de la floración se registró la cantidad de frutos formados en cada uno de los tratamientos. En la Tabla I se muestra un resumen de los tratamientos realizados.

Tabla I – Lugares y tipos de tratamientos realizados para determinar dependencia de las plantas a la polinización entomófila.

Año	Lugar	Acceso polinizadores	N° plantas	N° flores
2009	<b>Estación 1</b> Fac de Agronomía	No	5	385
		Si		193
	<b>Estación 2</b> INIA Las Brujas	No	6	90
		Si		83
	<b>Estación 3</b> Arboles Salto	No	15	605
		Si		319
2010	<b>Estación 2</b> INIA Las Brujas	No	6	75
		Si		76
2010	<b>Estación 4</b> Arboles Sauce	No	3	214
		Si		210

#### 4.2.5 Relevamiento de insectos polinizadores

Durante dos períodos de floración, 2009 y 2010, se registraron los insectos sobre flores de guayabo. Se consideraron las flores que se encontraban en los estadios fenológicos F1 a F3 (Figura4) y se registró si los insectos estaba en contacto con anteras y pistilos de la flor o no. En 2009 se realizó un relevamiento de los insectos que se encontraron sobre las flores en los cultivos de guayabos de las Estaciones 1 y 2.



Figura4. Una Flor en el estadio F2 delante y una Flor en el estadio F3 detrás.

Los visitantes florales fueron registrados en cuatro periodos del día: 07:30-09:00, 10:00-11:30, 13:30-15:00 y 15:30-17:00 horas. En el año 2010 las observaciones se realizaron en la Estación 2 y 4 en cuatro periodos del día. En Estación 2: 07:00-09:00, 10:00-11:30, 13:30-15:00 y 15:30-17:30 horas, y en Estación 4: 07:00-10:00, 10:00-13:00, 13:30-16:30 y 16:30-19:30 horas (asignándole una hora de observación a cada árbol, que estaban distantes entre sí) siguiendo la metodología de Anderson (2003) (Tabla II).

Tabla II. Resumen de frecuencias de visitas a las estaciones.

<b>Año</b>	<b>Estaciones</b>	<b>Fechas</b>	<b>Horarios</b>
<b>2009</b>	Estación 1	13, 20 y 27/11	07:30-09:00 10:00-11:30
	Estación 2	7, 16, 25/11 y 2/12	13:30-15:00 15:30-17:00
<b>2010</b>	Estación 2	30/10, 6,13,20 y 27/11	07:00-09:00 10:00-11:30 13:30-15:00 15:30-17:30
	Estación 4	28/10, 4, 11, 18 y 25/11	7:00 -10:00 10:00-13:00 13:30-16:30 16:30-19:30

Los insectos fueron registrados visualmente, pero se colectaron con una red entomológica los desconocidos o dudosos para observarlos posteriormente, se mataron con acetato de etilo en frasco matador, y posteriormente se acondicionaron en un recipiente con etiqueta de papel indicando fecha, localidad y horario de captura. Posteriormente se clasificaron en el laboratorio. La identificación se realizó utilizando las claves de Richards & Davies (1984), Artigas & Hengst (1999), Arnett & Thomas (2001) y Arnett *et al.* (2002) y Michener (2007) para abejas. El material determinado será incluido en la colección privada de la autora y un lote se dividirá para formar parte de la colección de Facultad de Ciencias. La Figura 5 muestra las actividades realizadas en el campo y en el laboratorio.



Figura5. A) Registro de insectos asociados a las flores. B) Captura de insectos con red entomológica. C) Clasificación en el laboratorio de los insectos capturados. D) Observación de aves interactuando con las flores.

#### 4.2.5.1 Observación complementaria. Avistamiento de aves en el cultivo.

Para determinar la presencia de las aves en contacto con las flores se utilizó como referencia la metodología empleada por Aderson (2003), usando binoculares 8x40, por 10 minutos, cuatro veces, en cada periodo y día de observación.

#### 4.2.6 Estimación del porcentaje de cuajado de los frutos

Luego de finalizada la floración, se quitaron las mallas y se esperó a que los frutos adquirieran su máximo desarrollo. En las ramas cubiertas y en las muestras control se determinó el porcentaje de cuajado de los frutos según la siguiente fórmula:

$$\text{Cuajado (\%)} = (N^\circ \text{ de frutos} / N^\circ \text{ inicial de flores}) \times 100$$

#### 4.2.7 Tratamiento de los datos.

La comparación estadística entre la proporción de frutos producidos sin polinización con los producidos por polinización natural (Control) fue realizada a través de una prueba  $\chi^2$  (chi-cuadrado); esto con el propósito de determinar la dependencia o no de agentes externos para la producción de frutos. Siguiendo el usado por Barrios *et al*, 2010.

### 4.3 RESULTADOS

#### 4.3.1 Evolución de la floración

En 2009 la floración en el cultivo de guayabos de la Estación 1, comenzó en la segunda semana de noviembre y finalizó abruptamente sobre el final de este mes. En la última visita (4 de diciembre) no se encontraron flores. En el cultivo de la Estación 2 la floración comenzó en la primera semana de noviembre y finalizó en la primera semana de diciembre. Los picos de floración de ambos cultivos fueron coincidentes: 27 y 25 de noviembre para las Estaciones 1 y 2 respectivamente (Figura6).

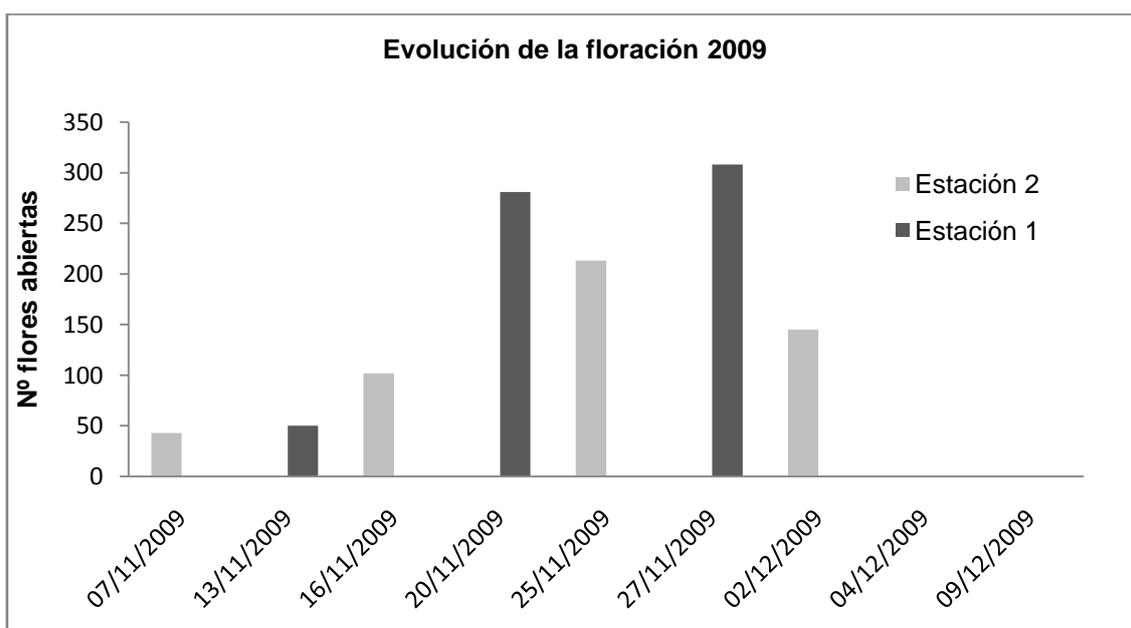


Figura6 – Evolución de la floración en los cultivos de guayabos de la Estación 1(Salto) y de la Estación 2 (Canelones) durante el año 2009.

En 2010, la floración del cultivo de la Estación 2 comenzó en la última semana de octubre y aún estaban presentes algunas flores en la última visita del 4 de diciembre. Se contabilizaron mas flores abiertas en esta estación, que en el año anterior. En los tres árboles de la ciudad de Sauce la floración comenzó sobre el final de octubre y se extendió hasta el final de noviembre (Figura7).

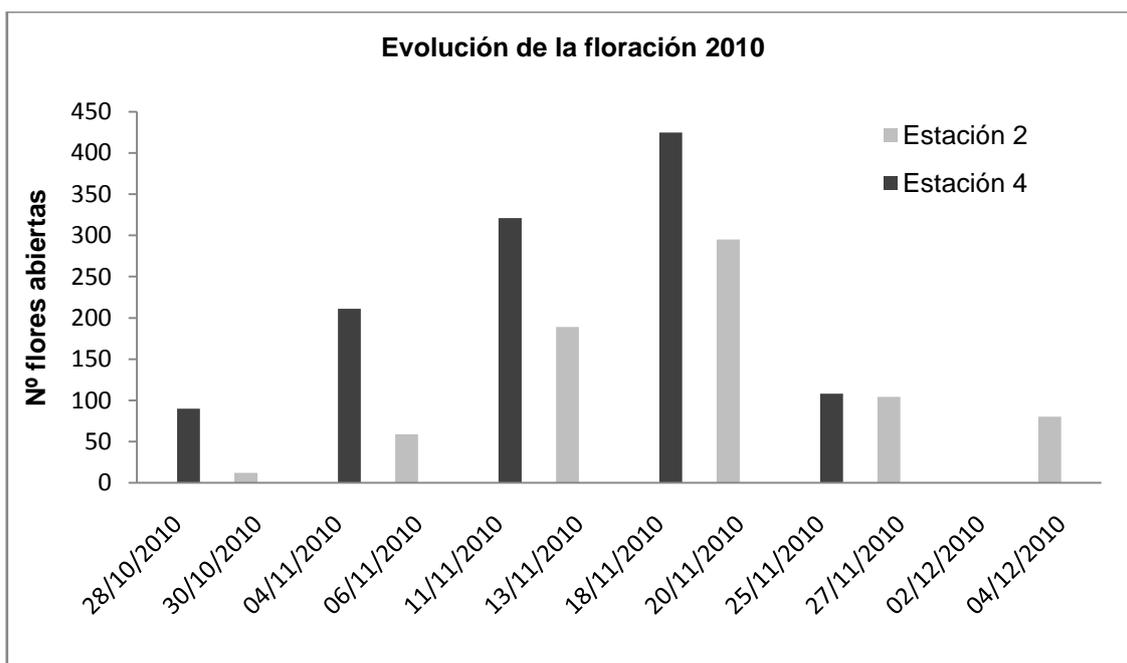


Figura7. Evolución de la floración en los cultivos de la Estación 2 y en los árboles de la Estación 4 durante el año 2010

#### 4.3.2 Dependencia de los guayabos a la polinización entomófila

Se constató visualmente que el enmallado de las ramas no interfirió con la normal apertura floral. Un poco antes de que los frutos adquirieran características de consumo, se quitaron las mallas para determinar el porcentaje de cuajado. El porcentaje de cuajado de frutos en las ramas con las flores imposibilitadas de recibir polinizadores varió entre 0 y 5,6%, mientras que en las ramas con flores visitadas por insectos varió entre 10,3 y 90,9%. En las cinco estaciones de observación se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de cuajado entre los dos tratamientos, mostrando que la producción de frutas en los guayabos tiene una dependencia importante, aunque

variable, de la polinización entomófila. El porcentaje de cuajado en las ramas enmalladas fue mayor en los árboles silvestres (5,6 y 5,1%) que en los árboles cultivados (0,5; 0 y 0%). Y en 2009 en los cultivos de las Estaciones 1 y 2 el porcentaje de cuajado en las ramas con libre acceso de polinizadores fue bajo (10,3 y 25,3%, respectivamente) Por el contrario, en los árboles silvestres de los parques los porcentajes de cuajado fueron superiores: 43,6% en Estación 3 y 90,1% en la Estación 4.

Resulta interesante la comparación de los resultados obtenidos en el cultivo de la estación 2 en los años 2009 y 2010, donde en un año se duplicó el porcentaje de cuajado (de 25,3 a 55,3%). (Tabla III).

Tabla III. Porcentaje de cuajado de frutos en los árboles experimentales de guayabo

Año	Lugar	Acceso polinizadores	N° plantas	N° flores	N° frutos	% frutos
2009	Estación 1	No	5	385	2	0,5
		Si		193	20	10,3
	$\text{Chi}^2 = 28,16; P < 0,0001$					
	Estación 2	No	6	90	9	0
		Si		83	21	25,3
	$\text{Chi}^2 = 18,39; P < 0,0001$					
Estación 3	No	15	605	34	5,6	
	Si		319	136	43,6	
	$\text{Chi}^2 = 120,37; P < 0,0001$					
2010	Estación 2	No	6	75	0	0
		Si		76	42	55,3
	$\text{Chi}^2 = 32,06; P < 0,0001$					
Estación 4	No	3	214	11	5,1	
	Si		210	191	90,9	
	$\text{Chi}^2 = 120,47; P < 0,0001$					

Se constató visualmente que los frutos formados por libre polinización, fueron de mayor tamaño que los formados sin la acción de polinizadores (Figura 8).



Figura8. Frutos formados sin acción de los polinizadores y con libre polinización.

#### 4.3.3 Relevamiento de insectos polinizadores

Las diferentes especies encontradas pertenecen a los órdenes Hymenoptera, Coleoptera y Diptera, constatando muchas diferencias entre cultivos y entre años. De las 28 especies y morfo-especies halladas, 16 fueron observadas sobre el pistilo y/o las anteras de la flor, mientras que 12 se encontraron sobre los pétalos.

En 2009 se registraron para la Estación 1 un total de 425 insectos, representados por los órdenes, Coleoptera, Diptera e Hymenoptera. Se identificó 1 morfo-especie para Coleóptera. De este orden además, se registraron las familias, Scarabaeidae, Coccinellidae y Chrysomelidae. Se identificó también 7 morfo-especies para Díptera y 3 familias de este orden correspondientes a Syrphidae, Tabanidae y Calliphoridae. Para Hymenoptera se registraron 3 familias: Apidae, Formicidae y Sphecidae como la más abundante (n= 122, correspondientes al género *Sphex*). (Tabla IV)

Tabla IV. Grupos de insectos, abundancia y ubicación en las flores en Estación 1, 2009

Orden	Familia	Taxa	Abundancia	Sobre pistilo y/o anteras	
				SI	NO
Coleoptera		Coleoptera 1	2	0	2
	Scarabaeidae	Scarabaeidae 1	3	1	2
	Coccinellidae	Coccinellidae 1	1	0	1
	Chrysomelidae	Chrysomelidae 1	2	1	1
Diptera		Diptera 2	3	0	3
		Diptera 3	97	2	95
		Diptera 4	3	0	3
		Diptera 5	19	0	19
		Diptera 6	65	2	63
		Diptera 7	2	0	2
		Diptera 8	27	3	24
	Syrphiade	Syrphiade 1	1	0	1
	Tabanidae	Tabanidae 1	5	0	5
	Calliphoridae	Calliphoridae 1	1	0	1
Hymenoptera	Sphecidae	<i>Sphex sp.</i>	122	0	122
	Apidae	<i>Apis mellifera</i>	18	18	0
	Formicidae	Formicidae 2	54	0	54
<b>Total</b>			<b>425</b>	<b>27</b>	<b>398</b>

Para la Estación 2 se registró un total de 89 insectos. Estos están representados por los órdenes, Diptera e Hymenoptera. Se identificó 1 morfo-especie para Díptera. Para Hymenoptera se registraron 4 Familias, Formicidae fue la más abundante (n=62), siguiendo Apidae, Halictidae y Megachilidae. (Tabla V).

Tabla V. Grupos de insectos, abundancia y ubicación en las flores en Estación 2, 2009

Orden	Familia	Taxa	Abundancia	Sobre pistilo y/o anteras	
				SI	NO
Diptera	-	Diptera 1	3	0	3
Hymenoptera	Formicidae 1	Formicidae 1	62	0	62
	Apidae	<i>Apis mellifera</i>	13	13	0
	Halictidae	Halictidae 1	7	7	0
		<i>Halictus</i> sp.	2	2	0
	Megachilidae	<i>Megachile</i> sp.	2	2	0
<b>Total</b>			<b>89</b>	<b>24</b>	<b>65</b>

En la Estación 1 se destacó la presencia de 10 morfo-especies de Diptera, donde las tres más abundantes fueron registradas eventualmente sobre el pistilo y/o las anteras. Las restantes morfo-especies de Diptera se localizaron sobre los pétalos carnosos de las flores, alimentándose de las secreciones azucaradas. La especie más abundante registrada en esta estación pertenece al género *Sphex* de la familia Vespidae, con un total de 122 registros. Este véspido se alimenta de los pétalos dulces del guayabo, rompiéndolos con sus piezas bucales. Las heridas que dejan las avispas en los pétalos son las que aprovechan las diversas especies de Diptera para alimentarse (Figura9).

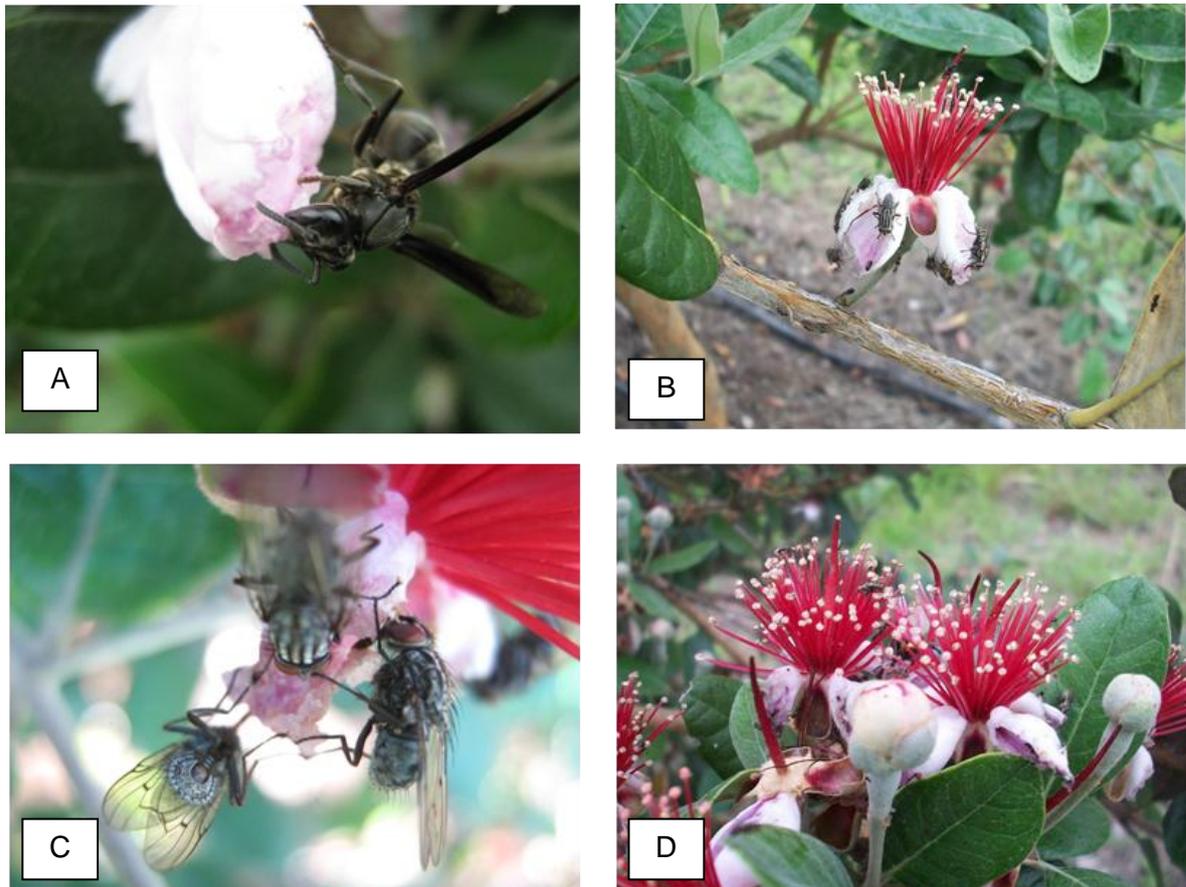


Figura9. A) Avispa del género *Sphex* alimentándose de los pétalos, B) y C) Dípteros asociados esperando para libar de las heridas de los pétalos y D) Dípteros sobre las estructuras reproductivas de las flores.

También las abejas *Apis mellifera* estuvieron presentes en las flores de guayabos de la Estación 1, siendo el único árido registrado (18 registros).

En 2010, en la Estación 2 se registraron una total de 154 insectos, una abundancia superior a lo encontrado en el 2009. Estos insectos representan los órdenes, Diptera e Hymenoptera. Se identificaron 3 morfo-especies para Díptera y 1 familia de este orden correspondientes a Syrphidae. Para Hymenoptera se registraron 5 Familias; Formicidae fue la más abundante (n= 47). Le sigue en abundancia la familia Apidae con 3 especies (*Apis mellifera*, *Bombus atratus* y *Xylocopa augusti*). Las demás familias corresponden a Megachilidae, Halictidae y Vespidae (Tabla VI).

Tabla VI. Grupos de insectos, abundancia y ubicación en las flores en Estación 2, 2010. También se incluyen las aves observadas.

Orden	Familia	Taxa	Abundancia	Sobre pistilo y/o anteras		
				SI	NO	
Diptera	-	Diptera 1	5	0	5	
	-	Diptera 3	1	1	0	
	-	Diptera 4	1	1	0	
	Syrphiade	Syrphiade 1	27	0	27	
Hymenoptera	Halictidae	Halictidae 1	10	10	0	
	Megachilidae	<i>Megachile</i> sp.	6	6	0	
	Halictidae	<i>Halictus</i> sp.	5	5	0	
	Apidae		<i>Apis mellifera</i>	35	35	0
			<i>Bombus atratus</i>	5	5	0
			<i>Xylocopa augusti</i>	3	3	0
	Vespidae	<i>Polybia scutellaris</i>	9	9	0	
Formicidae	Formicidae 1	47	0	47		
Passeriformes	Turdidae	<i>Turdus rufiventris</i>	3	3	0	
	Thraupidae	<i>Thraupis bonariensis</i>	3	3	0	
	Mimidae	<i>Mimus saturninus</i>	2	2	0	
<b>Total insectos</b>			<b>154</b>	<b>75</b>	<b>79</b>	
<b>Total aves</b>			<b>8</b>	<b>8</b>	<b>0</b>	

En la estación 4 se registraron una total de 497 insectos, una abundancia superior a la encontrada en la estación 2 para este año. Estos insectos están representados por 3 órdenes, Coleoptera, Diptera e Hymenoptera. Siendo el orden Hymenoptera el más abundante con 347 registros. Se identificó 1 familia para el orden Coleoptera. Para el orden Diptera se identificaron 3 morfo-especies y 1 familia de este orden,

correspondientes a Syrphidae. Para Hymenoptera se registraron 5 Familias, Apidae fue la más abundante (n=159), con 5 especies (*Apis mellifera*, *Xylocopa augusti*, *Bombus atratus*, *Xylocopa violaceae* y *Bombus bellicosus*) (Tabla VII).

Tabla VII. Grupos de insectos, abundancia y ubicación en las flores en Estación 4, 2010. También se incluyen las aves observadas.

Orden	Familia	Taxa	Abundancia	Sobre pistilo y/o anteras	
				SI	NO
Diptera		Diptera 1	62	0	62
		Diptera 3	23	23	0
		Diptera 4	20	20	0
	Syrphiade	Syrphiade 1	34	0	34
Hymenoptera	Halictidae	Halictidae 1	21	21	0
		<i>Halictus</i> sp.	34	34	0
	Megachilidae	<i>Megachile</i> sp.	36	36	0
		Apidae	<i>Bombus atratus</i>	16	16
	<i>Bombus bellicosus</i>		5	5	0
	<i>Xylocopa augusti</i>		21	21	0
	<i>Xylocopa violaceae</i>		8	8	0
		<i>Apis mellifera</i>	109	109	0
	Vespidae	<i>Polybia scutellaris</i>	25	25	0
	Formicidae	Formicidae 1	72	0	72
Coleoptera	Chrysomelidae	Chrysomelidae 1	11	0	11
Passeriformes	Turdidae	<i>Turdus rufiventris</i>	15	15	0
	Thraupidae	<i>Thraupis bonariensis</i>	28	28	0
	Mimidae	<i>Mimus saturninus</i>	16	16	0
<b>Total</b>			<b>497</b>	<b>338</b>	<b>179</b>
<b>insectos</b>					
<b>Total de aves</b>			<b>59</b>	<b>59</b>	<b>0</b>

En el sur del país, en las Estaciones 2 y 4, se encontraron siete especies de abejas nativas pertenecientes a 3 familias. Estas fueron: *Halictus* sp. y una no definida a nivel de género y especie, ambas pertenecientes a la familia Halictidae con 41 y 38 registros respectivamente. Dentro de Apidae se encontraron las especies *Bombus atratus*, *Bombus bellicosus*, *Xylocopa augusti* y *Xylocopa violaceae*, con 21, 5, 24 y 8 ejemplares registrados respectivamente. La tercera familia de abejas nativas correspondió a Megachilidae representada por una especie de abeja perteneciente al género *Megachile*, con 44 registros obtenidos. En el cultivo de la Estación 2 se identificaron en 2010, dos especies de ápidos nativos: *B. atratus* y *X. augusti*, que no fueron registradas en 2009. En la estación 4 se registraron algunas especies que no habían sido registradas en 2009 para el sur del país: *B. bellicosus*, *B. atratus*, *X. violaceae* y *X. augusti* (Tablas VI y VII).

La abundancia de polinizadores en diferentes horarios mostró que fue mayor en los horarios entorno al medio día, entre las 10:00 y 13:00 hs, para las estaciones 2 (2009 y 2010) y 4(2010), en todas las fechas de muestreo. Solo en la Estación 1(2009) no fue así para la fecha del 20 de noviembre, que se vieron más insectos en el horario de las 7:30 a 10:00 am.

En todas las estaciones a excepción de de la 1, coincidió el pico de floración con la mayor abundancia de Polinizadores (Figura 10 A y B)

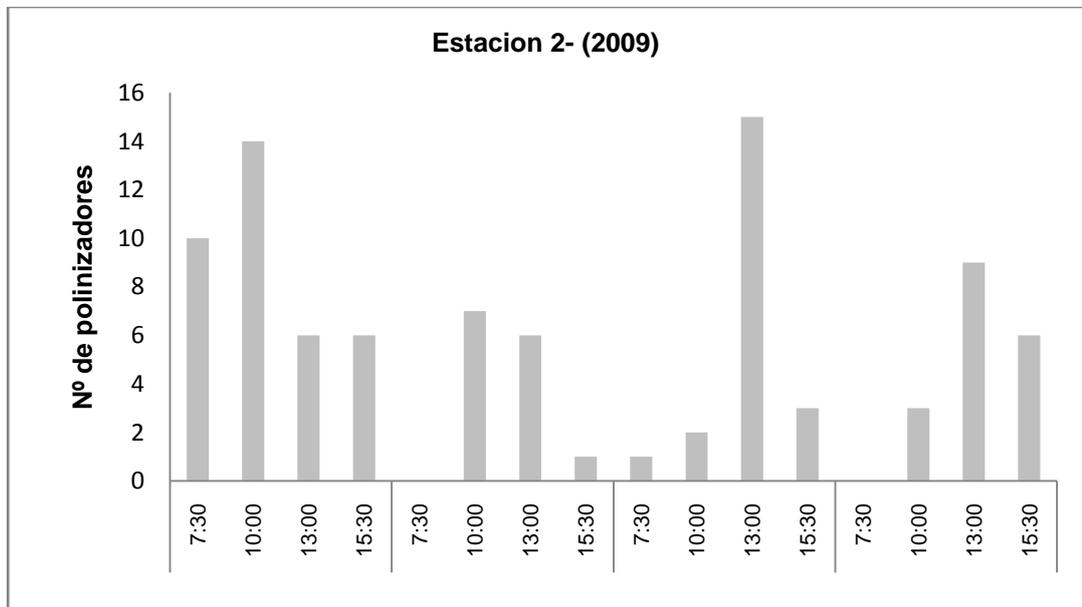
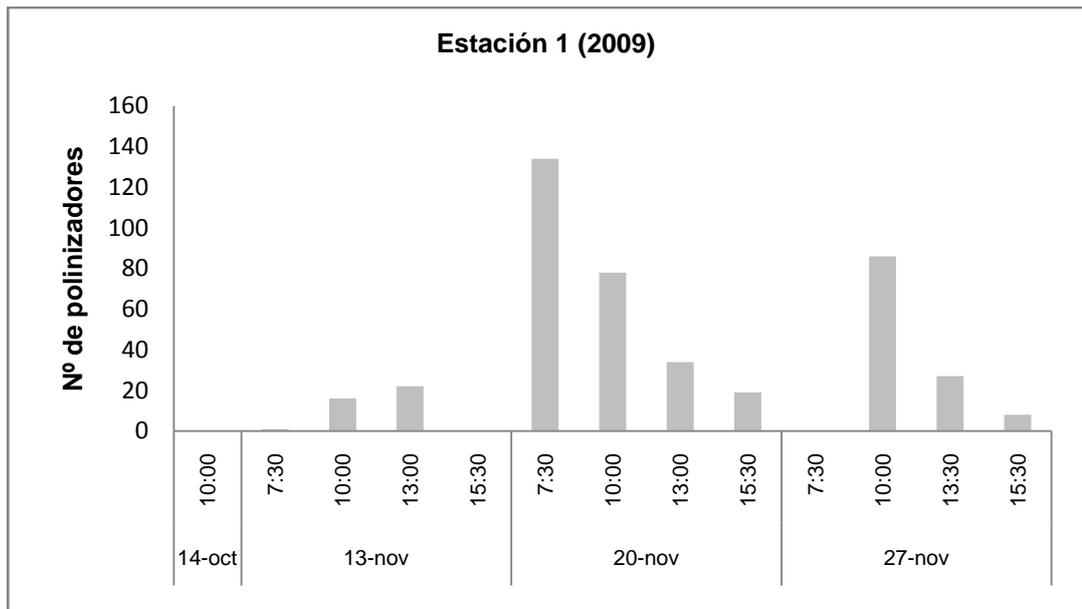


Figura 10 A. Abundancia de insectos en contacto con las estructuras florales y asociados a ellas, en las estaciones 1 y 2 (2009).

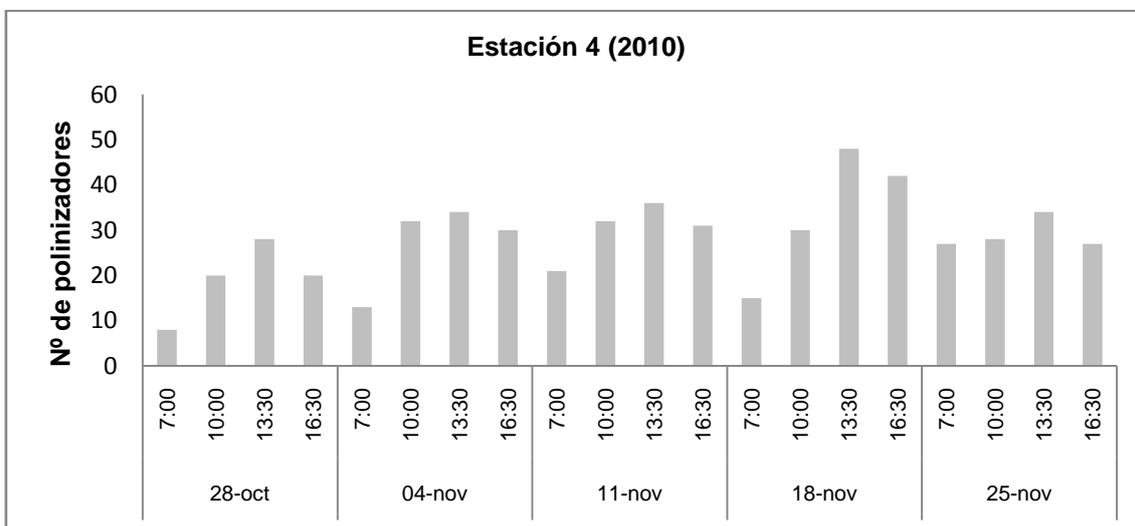
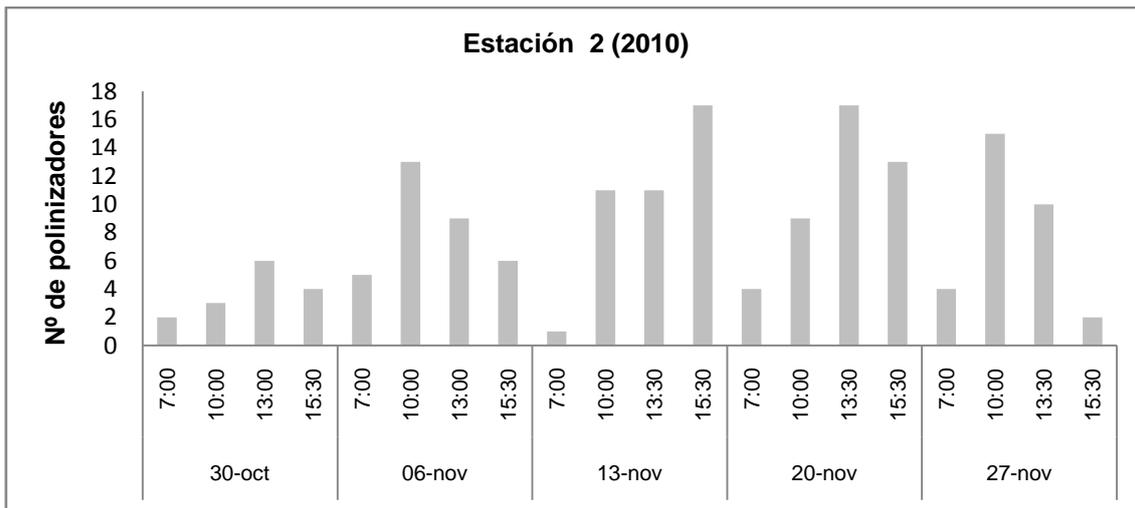


Figura 10 B. Abundancia de insectos en contacto con las estructuras florales y asociados a ellas, en las estaciones 2 y 4 (2010).

#### 4.3.3.1. Observación complementaria. Avistamiento de aves en el cultivo.

A diferencia de lo ocurrido en el 2009, en el año 2010, en la Estación 2 se observaron aves del orden Passeriformes pertenecientes a las familias: Turdidae, Thraupidae y Mimidae, interaccionando con las flores de guayabo. Las especies reconocidas e identificadas son: a) el zorzal: *Turdus rufiventris* (Turdidae), b) el naranjero: *Thraupis bonariensis* (Thraupidae) y c) la calandria *Mimus saturninus* (Mimidae); con 3, 3 y 2 registros realizados. (Figura 11).

En la Estación 4 también se visualizaron en contacto con las flores, aves pertenecientes a 3 familias del orden Passeriforme (Turdidae, Thraupidae y Mimidae). Las especies reconocidas e identificadas son: a) el sorzal: *Turdus rufiventris* (Turdidae), b) el naranjero: *Thraupis bonariensis* (Thraupidae) y c) la calandria *Mimus saturninus* (Mimidae); con 15, 28 y 16 registros realizados.

Las especies *T. rufiventris* y *T. bonariensis* fueron registradas claramente alimentándose de los pétalos de las flores, en cambio, con *M. saturninus* queda la duda de si son los pétalos o los insectos asociados a la flor lo que las atrae. Cuando las aves se alimentan de los pétalos los dejan dañados como se muestra en la Figura 12 y se ha visto que este tipo de heridas son utilizadas por los Dípteros que vienen a libar el jugo azucarado.



Figura11. A) Zorzal (*Turdus rufiventris*) y B) Naranjero (*Thraupis bonariensis*) alimentándose de los pétalos de flores de guayabos.



Figura12. Pétalos sanos y pétalos destruidos por la alimentación de las aves.

## 4.4 DISCUSION

### 4.4.1 Evolución de la floración

En 2009, la mayor duración de la floración en el cultivo en la Estación 2 pudo deberse a la menor cantidad de polinizadores, que fueron 89 frente a 384 en la Estación 1 (los árboles florecen de forma asincrónica incrementando la apertura de flores a medida que éstas son polinizadas), o a condiciones ambientales más benévolas. En este sentido, en el cultivo de Salto se verificaron vientos y lluvias que afectaron muchas flores (Anexos 2 y 3). A esto se sumó la presencia de insectos que se alimentaban de las estructuras florales.

En 2010, la diferencia entre los períodos de floración de los árboles de ambos sitios puede deberse a una mayor presencia de agentes polinizadores en los árboles de la

Estación 4, o puede tratarse de diferentes variedades de guayabos que se comporten de manera diferente, ante las mismas condiciones ambientales. (Vignale & Bisio, 2005).

Con respecto a la Estación 2 la floración se ha dado en forma similar en los dos años, presentando el pico de floración el 25 de noviembre en 2009 y el 20 de noviembre en 2010. Esta diferencia de algunos días pudo deberse a que el cultivo en 2010 presentó más cantidad de flores. Hubo entonces una variación de cantidad de flores abiertas en las distintas fechas. Además las condiciones ambientales de estos años fueron diferentes para las mismas fechas, lo que hizo que las floraciones se corrieran, por estar expuestas a períodos de luz y humedades diferentes. Ambos factores nombrados por Stewart (1989), como importantes factores interviniendo en la normal anthesis de las flores.

#### **4.4.2 Dependencia de los guayabos a la polinización entomófila**

Fue notoria la diferencia entre los tratamientos, mostrando la alta dependencia de este cultivo a la polinización entomófila, apoyando la primera hipótesis planteada. Lombardo *et al.* (2010) reportaron que el porcentaje de cuajado en ramas con exclusión de insectos en árboles de cultivo oscilaba entre 0 y 8%, mientras que para arboles silvestres con exclusión de polinizadores el porcentaje de cuajado oscilaba en un 50%. Los valores encontrados en este estudio son similares a los hallados por Lombardo *et al.* (2010) en el caso de las plantaciones de la Estación 1 y Estación 2 (0,5 y 0 % respectivamente), pero menores en el caso de los árboles silvestres. Dado que se encontró que las flores de plantas silvestres privadas de polinización tuvieron un 5,6 y 5,1% de cuajado de frutos.

El hecho de que en los arboles silvestres (Estación 3 y 4) cuajaran más frutos dentro de las mallas que en las mallas de arboles cultivados, puede deberse a que los árboles silvestres tuvieron una mayor cantidad de flores que los árboles cultivados, lo

que podría aumentar la probabilidad de que el polen llegara a las flores encerradas a través del viento, gravedad o movimiento de los insectos ó aves polinizadores dentro de los árboles. Es destacable que las Mirtáceas poseen muchas anteras con gran producción de polen. Del mismo modo se interpreta el hecho de que las ramas con libre polinización de los árboles silvestres dieran mayor porcentaje (43,6% y 90,9%, en estaciones 3 y 4 respectivamente) de cuajado, que las de los árboles cultivados.

Con respecto al bajo porcentaje de cuajado en las ramas con libre acceso de polinizadores en 2009, puede explicarse por dos factores. En primer lugar, las copiosas lluvias que recibió el cultivo pudieron “lavar” el néctar causando que los insectos no se vieran atraídos a explotar un recurso poco rentable. Este es un fenómeno muy conocido entre los apicultores, que encuentran que luego de lluvias intensas las abejas colectan poco néctar. En segundo lugar, la baja densidad de flores en los árboles cultivados puede desfavorecer a los guayabos frente a otras especies botánicas del entorno en la competencia por atraer insectos. Por el contrario, en los árboles silvestres de los parques, los porcentajes de cuajado fueron superiores, y en estos casos la alta cantidad de flores puede beneficiar el cuajado de frutos, tanto por atraer más insectos como por aumentar las posibilidades que el polen liberado llegue a las flores. El elevado valor obtenido en los tres árboles de la ciudad de Sauce indicaría el buen potencial biológico de los guayabos para producir frutos.

Comparando los datos de una misma estación en diferentes años, tenemos el caso de la Estación 2 donde se vio una mejora sustancial en el año 2010 con respecto al cuajado de los frutos. Este pudo deberse a que el crecimiento de los árboles juveniles estuvo asociado a un aumento en la cantidad de flores, con una mayor presencia de insectos. Así, además de incrementar el porcentaje de cuajado, aumenta la cantidad absoluta de frutos por árbol. Un estudio longitudinal a partir de un cultivo nuevo donde

se registre el número de flores por árbol, la presencia de insectos polinizadores, el porcentaje de cuajado y la producción total, sería un insumo importante para estudiar la rentabilidad de los cultivos de guayabos. No hay que descartar que también pudo haber influencia del clima en la fructificación.

Por último, es de destacar que los polinizadores no solo inciden en el porcentaje de cuajado, sino también en el tamaño del fruto. En este sentido, Lombardo *et al.* (2010) hallaron diferencias notorias en el tamaño de los frutos obtenidos de ramas enmalladas o libres, solamente encontrando en estas últimas, frutos con el tamaño adecuado para su comercialización. Si bien este aspecto no fue analizado en este estudio, se verificó visualmente la misma situación reportada por Lombardo *et al.* (2010).

#### **4.4.3 Relevamiento de insectos polinizadores**

Si bien en la Estación 2 se identificaron pocas especies de insectos sobre las flores, siendo Formicidae el grupo más abundante, éste no se encontró sobre las anteras o pistilos de la planta lo que deja ver su capacidad muy limitada para actuar como polinizador de esta especie de planta.

Los insectos registrados movilizándose activamente sobre las estructuras reproductoras, fueron en su mayoría, insectos del orden Hymenoptera. La presencia de abejas autóctonas es muy importante ya que se trata de un grupo de insectos que por sus hábitos alimenticios y comportamiento de pecoreo es reconocido como eficiente polinizador (Michener, 1974).

En la Estación 1, apareció de forma abundante el véspido *Sphex* sp. Esta avispa que se alimenta de los pétalos, deja heridas que utilizan las diversas especies de dípteros para alimentarse. Se observó que cuando están presentes véspidos, los dípteros se alejan de éstas y esperan su retirada sostenidas de las anteras y el pistilo de las flores y

moviéndose de continuo. Así, en presencia de las avispas los dípteros pueden constituir potenciales agentes polinizadores del guayabo, aunque no se movilizan activamente entre diferentes flores, condición necesaria para efectuar la polinización cruzada.

Las abejas *A. mellifera* estuvieron presentes en todas las Estaciones de estudio. Sin embargo las abejas autóctonas solo se registraron en el sur del país (Estaciones 2 y 4). De este modo, puede darse la situación de que los guayabos de ambos sitios, ubicados en dos zonas geográficas muy distantes, sean polinizados por especies diferentes, sin que ello impida alcanzar porcentajes de cuajado similares.

Los abejorros registrados (*B. atratus* y *B. bellicosus*) fueron reinas que habían salido de su hibernación, esto está de acuerdo con lo reportado por Salvarrey *et al.* (2013 a) quienes determinaron que las obreras recién suelen encontrarse a partir de enero. Tanto *B. atratus* como *B. bellicosus* son especies muy abundantes en Uruguay, la primera distribuida en todo el territorio y la segunda al sur del Rio Negro (Santos *et al.*, 2013). La presencia de abejorros en las flores de guayabos había sido reportada por Lombardo *et al.* en 2010.

Las dos especies de *Xylocopa* halladas ya habían sido registradas para el sur del país por Santos & Daners (2010). Estos insectos se caracterizan por su gran tamaño y a pesar de estar poco presentes en los cultivos, pueden considerarse como importantes polinizadores de los guayabos.

Resulta interesante constatar que la mayor abundancia y diversidad de insectos se halló en los tres árboles silvestres de la ciudad de Sauce (Estación 4). Es posible que estos árboles de gran tamaño, con mayor cantidad de flores atraigan mayor abundancia y diversidad de insectos, fundamentalmente ápidos, que los árboles más jóvenes. Quizás los insectos encuentren en estos árboles grandes, con más flores, una oferta de polen y néctar más rentable, o una menor competencia con otros insectos polinizadores. Esto se

traduciría en una mejor polinización de las flores, con un incremento en el porcentaje de cuajado, tal como fue verificado en estos árboles (91%, Tabla III).

La mayor abundancia de insectos que se ha dado en el entorno del mediodía, pudo deberse a que estas plantas liberan mas néctar y polen en esos horarios. Stewart, (1989), estudiando los factores que afectan la eficiencia polinizadora, encontró que los guayabos tienen un máximo de liberación de néctar a mediodía, cuando las temperaturas son más altas. Solo en la Estación 1(2009), en la fecha del 20 de noviembre no se dio esta situación y es posible que hayan interferido las condiciones climáticas. Pues ese día cayeron en la Estación: 1.8mm de agua y hubo vientos de 338,5 2m/km/24hs, afectando el normal pecoreo de los polinizadores (Ver anexo 3).

Las fechas con mas abundancia de polinizadores, correspondió con los picos de floración. Para el caso de los ápidos polinizando este cultivo es entendible, dado que seleccionan donde pecorear, evaluando entre otras cosas la abundancia de flores en el cultivo tal como lo comenta Stewart,(1989).

#### **4.4.3.1. Observación complementaria. Avistamiento de aves en el cultivo.**

A diferencia de lo ocurrido en el 2009, en el año 2010 se observaron aves tal como lo describe Anderson (2003) y otros autores. No pudo registrarse si *M. saturninus* se alimenta de los pétalos o de los insectos asociados a las flores, dado que este ave tiene hábito alimenticio insectívoro.

Es difícil explicar por qué las tres especies de pájaros hallados en el año 2010, con distribución en todo el territorio, no fueron observadas en los relevamientos realizados en el año 2009, tanto en árboles del sur como del norte del país. Es posible que las inclemencias del tiempo afectaran el normal comportamiento de las aves. Posteriores estudios han de dirigirse para registrar las asociaciones entre las aves y los

insectos, dado que las heridas que las aves provocan en los pétalos, atraen a muchos insectos que pueden estar jugando un papel polinizador importante.

#### 4.5 CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Este estudio demostró que la producción de frutos de los guayabos y la calidad de los mismos dependen de manera muy importante de la presencia de polinizadores. Siendo solo entre 0 y 5.6% la producción de frutos si no hay polinizadores, mientras que puede ser entre 10.3 y 90% la producción de frutos si hay polinizadores en el ambiente.

Los estudios de Lombardo (2010) sirven como antecedente a este estudio de polinización en guayabos, en cuanto a determinar la dependencia de la planta a la polinización entomófila; pero este es el primer estudio que se realiza en el país, para determinar la biota implicada en la producción de sus frutos.

Las abejas *A. mellifera* estuvieron presentes en todos los cultivos observados. Esto abre la posibilidad de polinizar los guayabos emplazando colonias de abejas en las cercanías de los cultivos. La determinación del aumento de producción de los árboles cuando se incrementa el número de abejas en el cultivo, debería originar estudios posteriores. En caso de encontrar resultados positivos en esos estudios en cuanto al incremento en la producción, se justificaría la contratación de servicios de polinización a apicultores.

Siete especies de abejas nativas estuvieron presentes en las observaciones realizadas en el departamento de Canelones. Entre éstas se destacan abejorros del género *Bombus*. Aunque durante el periodo de floración solo es posible ver reinas salidas de la hibernación, existe la posibilidad de polinizar el cultivo con obreras si se consiguen criar abejorros artificialmente desestacionalizando el ciclo natural. En este

sentido, en Uruguay ya hay resultados incipientes de cría de abejorros nativos (Salvarrey *et al.*, 2013a) que generan expectativa de que se pueda dominar la técnica de cría de estos valiosos polinizadores y producir colonias a mayor escala. El aumento de las demás especies de abejas nativas podría incrementarse favoreciendo los sitios de anidación y evitando el uso de insecticidas nocivos para las abejas (Shepherd *et al.*, 2003).

En el cultivo de Salto se observó una interesante relación entre un Véspido del género *Sphex* y varias especies de dípteros, donde éstos se ubican en las anteras de las flores cuando las avispas se encuentran alimentándose en los pétalos. El rol que pueden tener estos dípteros en la polinización es desconocido, pero el hecho de que el porcentaje de cuajado de frutos en Salto haya sido importante aún cuando no se observaron ápidos, salvo *A. mellifera*, hace pensar que los dípteros pueden ser agentes polinizadores, pero habrá que realizar más estudios al respecto.

Como complemento a las observaciones realizadas se puede aventurar que el rol que pueden cumplir las aves en la polinización no es claro. Los resultados de este estudio no aportan información en este sentido, sobre todo cuando solo estuvieron presentes en los árboles de Canelones y en un solo año. Otros estudios deberían ser dirigidos para determinar si son realmente vectores de polen.

En Uruguay se vienen desarrollando líneas de investigación en INIA y Facultad de Agronomía para estudiar el potencial comercial de los guayabos (Vignale & Bisio, 2005; Lombardo *et al.*, 2010; Feippe *et al.*, 2011). Este estudio aporta datos concretos del valor de los polinizadores en la producción de frutos. Y aporta datos acerca de cuáles son los insectos implicados en la polinización del cultivo.

## CAPITULO 5

### DISCUSION GENERAL

Los resultados obtenidos en esta tesis apoyan las hipótesis planteadas. Se ha determinado que los tres cultivos en estudio dependen en alguna medida de la polinización entomófila, para producir la cantidad de frutos que se registra actualmente. Son más dependientes de la polinización entomófila los cultivos de, *M. domestica* y *A. sellowiana* que el cultivo de *G. max*. Si bien el cultivo de soja, produce frutos por autogamia, este estudio demuestra que al menos un 10% de la producción actual es debida a la polinización entomófila. Además el orden de insectos más abundante polinizando los cultivos ha sido Hymenoptera, como se planteaba. Estando más representado este orden en las plantas de guayabos donde se registró la mayor diversidad de ápidos, véspidos y formícidos.

En cuanto a las floraciones, todas se han dado con un mes de duración y se ha logrado correlacionar la mayor abundancia y diversidad de insectos sobre las flores con el pico de floración de los cultivos. En el cultivo de *M. domestica*, donde sólo apareció una especie de insecto, de todos modos éste fue más abundante durante el pico de floración.

Se ha visto, además, que la abeja melífera *A. mellifera* estuvo presente en todos los estudios, participando activamente de la polinización y siendo de suma importancia su presencia en el ambiente para el cultivo de *M. domestica*. Las abejas nativas actuaron en mayor medida en el cultivo de *A. sellowiana*, como era de esperar para un cultivo que es nativo también. Se ha analizado por ello, la posibilidad de complementar cada

producción con la apicultura, por el valor que posee en sí misma como servicio polinizador a estos cultivos de importancia económica.

Es necesario realizar más estudios sobre los beneficios de polinizar los cultivos con abejas melíferas, atendiendo a la presencia de recursos botánicos que compitan en la atracción de los polinizadores y atendiendo también a la competencia que puede darse entre polinizadores nativos e introducidos, y sus efectos en los ecosistemas. Al mismo tiempo tomar las consideraciones necesarias con el uso de agroquímicos para no afectar las poblaciones de insectos beneficiosos. Los productos fitosanitarios pueden ocasionar perjuicios en la cadena trófica de los insectos que hemos mencionado en estos estudios y con ello se verían afectados los rendimientos productivos de los cultivos.

Con los resultados obtenidos se pueden establecer pautas de manejo utilizando los insectos relevantes encontrados, ya que se carecía de esta información hasta el momento en los cultivos de interés comercial estudiados. De este modo, se aportan datos al rubro granjero, para poder mejorar el rendimiento y calidad de sus cultivos mediante una consideración apropiada de los insectos polinizadores que hay en el ambiente o que pueden manejarse por el hombre como por ejemplo la abeja melífera.

## CAPITULO 6

### BIBLIOGRAFIA

- Aizen, M A & Harder, L D (2009). The Global Stock of Domesticated Honey Bees Is Growing Slower Than Agricultural Demand for Pollination. *Current Biology*, 19, 915–918.
- Amarante C, Steffens C, Ducroquet J, Sasso A. 2008. Pesquisa agropecuaria brasileira Brasília, 43: 1683 - 1689.
- Arbulo N, Santos E, Salvarrey S, Invernizzi C. 2011. Effect of proboscis length on resource utilization in two Uruguayan bumblebees: *Bombus atratus* Franklin and *Bombus bellicosus* Smith (Hymenoptera, Apidae). *Neotropical Entomology*, 40: 72 -77.
- Arnett RH & Thomas MC. 2001. American Beetles. Vol. 1. Boca Ratón: CRC Press. 443p.
- Arnett RH, Thomas MC, Skelley RE, Frank JH. 2002. American Beetles. Vol. 2. Boca Ratón: CRC Press. 861p.
- Artigas JN & Hengst MB. 1999. Clave ilustrada para los géneros de asílidos argentinos (Diptera: Asilidae). *Revista Chilena de Historia Natural*, 72: 107 - 150.
- Barrios Y, Ramírez N, Ramírez E, Sánchez E, Castillo R. 2010. Importancia de los polinizadores en la reproducción de seis especies de subpáramo del pico Naiguatá (Parque Nacional el Ávila Venezuela) *Acta botánica de Venezuela*. 33:213-231.

- Barth F. (1991) *Insects and flowers: the biology of a partnership*. New Jersey: Princeton University Press. 204p.
- Beltrán I, Díaz G y Reza R. 2000. Polinización apícola del manzano en Coahuila. *Agraria* 16: 1 - 12.
- Benedek, P. & Nyéki, J. (1996): Fruit set of selected self-sterile and self-fertile fruit cultivars as affected by the duration of insect pollination. *Acta Horticulturae*, 423: 57–63.
- Betts AD. 1935. The constancy of the pollen-collecting bee. *Bee World*, 16: 111 - 13.
- Biesmeijer, J C, Roberts, S P M, Reemer, M, Ohlemuller, R, Edwards, M, Peeters, T, Schaffers, A P, Potts, S G, Kleukers, R, Thomas, C D, Settele, J, & Kunin, W E (2006). Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science*, 313, 351–354.
- Borges R, Gowda V, Zacharias M. 2003. Butterfly pollination and high-contrast visual signals in a low-density distylous plant. *Oecologia*, vol. 136:571-573.
- Bosch J, Blas M, & Lacasa A. 1992. *Osmia cornuta* (Hymenoptera; megachilidae), un nuevo polinizador para los almendros. *Fruticultura Profesional*, 44: 65 - 71.
- Chiari W, Arnaut de Toledo V, Colla M, Takasusuki R, Braz de Oliveira A, Shiguero E, Attencia V, Martins F & Hitomi M. 2005. Pollination of Soybean (*Glycine max* L. Merrill) by Honeybees (*Apis mellifera* L.). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48: 31 -36
- Cordara J.2005. *La Historia de la Apicultura en Uruguay* (Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de la Empresa. Montevideo Uruguay.

- Dalmazzo & Roig-Alsina R. 2011. Revision of the species of the New World genus *Augochlora* (Hymenoptera, Halictidae) occurring in the southern temperate areas of its range. *Zootaxa. Magnolia Press*, 2750: 15 - 32.
- Danner MA, Citadin I, Sasso SAZ, Sachet MR, Ambrósio R. 2010. Fenologia da floração e frutificação de mirtáceas nativas da floresta com araucaria. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32:291–295.
- De la Cuadra S. 1992. La importancia de las abejas en la polinización de los frutales. La Palma, 5: 27 - 34.
- Degenhardt J, Orth A, Guerra M, Ducroquet J P, Nodari R. 2001. Morfología Floral Da Goiabeira Serrana (*Feijoa Sellowiana*) E Suas Implicações Na Polinização. *Revista Brasileira Fruticultura*, 23: 718 - 721.
- Delaplane K, Dag A, Danka R, Freitas B, Garibaldi L, Goodwin R & Hormaza J. 2013. Standard methods for pollination research with *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research* 52:1-28.
- Dettoni M. & Palombi M. 2000. Identification of *Feijoa sellowiana* Berg. accessions by RAPD markers. *Scientia Horticulturae*, 86: 279 – 290.
- Devillers J, Pham-Delegue MH, Decourty A, Budzinski H, Cluzeau S & Maurin G. 2002. Structure-toxicity modeling of pesticides to honey bees. SAR and QSAR in Environmental Research, 13: 641 - 648.
- Díaz R. & Raudovitch L. 2010 Boletín Apicultura Uruguay trazabilizada y capacitada para el mundo. MGAP-DIGEGRA. 14p.

- Ducroquet JPHJ, & Hickel ER. 1991. Fonología da goiabeira serrana (*Feijoa sellowiana* Berg) no alto vale do Ríó do Peixe, Santa Catarina. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, 13: 313 - 320.
- Ducroquet J. & Hickel E. 1997. Birds as pollinators of Feijoa (*Acca sellowiana* Bera) *Acta Hortifruticultura*, (ISHS), 452: 37 - 40.
- Ducroquet J, Hickel E.& Nodari RO. 2000. Goiabeira-serrana (*Feijoa sellowiana*). Jaboticabal, SP, Edicion Funep (Série Frutas Nativas). 66p.
- Dukas R & Real L. 1993. Effects of nectar variance on learning by bumblebees. *Animal Behaviour*, 45: 37 - 41.
- Erickson E. 1975. Effects of honey bees on yield of soy bean cultivars. *Crop Science*, 15:84 - 86.
- Erickson E, Berger G & Shannon J. 1978. Honey bee pollination increases soybean yields in the Mississippi Delta Region of Arkansas and Missouri. *Journal of Economic Entomology*, 71: 601 - 603.
- Erickson E & Garment M . (1979), Soya-bean flowers: nectary ultra structure, nectar guides, and orientation on the flower by foraging honeybees. *Journal of Apicultural Research*, 18: 1 – 11.
- Feippe A, Ibáñez F, Calistro P, Zoppolo R & Vignale B. 2011. Uruguayan native fruits provide antioxidant phytonutrients and Potencial health benefits. *Acta Horticola* (ISHS). 918: 443 - 447.

- Finardi C, Mathioni SM, Santos KL, Ducroquet JP, Orth AI, Guerra MP, Nodari RO. 2002. Caracterização da polinização em goiabeira serrana (*Acca sellowiana*). Acta de congreso Brasileiro de Fruticultura. pp17.
- Free JB. 1963. The Flower Constancy of Honeybees. *Journal of Animal Ecology*, 32:119-131.
- Free JB. 1967. Factors determining the collection of pollen by honeybee foragers. *Animal Behaviour*. 15: 134-144.
- Gallai n., Salles J.m., Settele J., Vaissière B.e., 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics* 68, 810-821.
- Graces N & Morales G. 2000. Production of apple (*Malus* sp. cv Anna) in western Antioquia using the honey bee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). *Revista - Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 53: 849-862.
- Gardner KE, & Ascher JS. 2006. Notes on the native bee pollinators in New York apple orchards. *Journal of the New York Entomological Society*, 14: 86 - 91.
- Ghazoul J. 2005. Buzziness as usual? Questioning the global pollination crisis. *Trends in Ecology and Evolution*. 20: 367-373.
- Gil G. 2000. La Producción de fruta. Ediciones Universidad Católica de Chile. 583p.
- Gordón M, Jardín Botánico Atlántico & Concepción Ornosá. 2005. Polinizadores y biodiversidad. Asociación Española de Entomología, Jardín Botánico Atlántico y Centro Iberoamericano de la Biodiversidad. 160p.

- Graham J. 1993. The Hive and Honey Bee. Dadant & Sons, Inc. Hamilton Illinois. 1324p.
- Grüter, C. & Ratnieks, F. L. W. 2011. Honey bee foragers increase the use of waggle dance information when private information becomes unrewarding. *Animal Behaviour*, 81, 949-954.
- Guerrero V, Romo A, Orozco J, Berlanga D, Gardea A, & Parra R. 2006. Apple pollination in “Red Delicious” and “Golden Delicious”. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 29: 41- 45.
- Haragsim O, Vesely V, Sedvy J, Taimr L, Dockal J & Balcar J. 1965. Activity of Honey Bees marked with Radioisotoes and moved of Lucerne (*Medicago sativa*). 20 th International Beekeepers Congress (II/4).
- Hellmich .R., Kulincevic M & Rothenbuhler C. 1985. Selection for high and low pollenhoarding honey bees. *The Journal of Heredity*, 76: 155-158.
- Janick J. 2002. Wild apple and fruit trees of Central Asia. *Horticultural Reviews*. 416 p.
- Jean - Prost P. 1995. *Apicultura*. 3<sup>a</sup> Edicion Mundi Prensa. Madrid, España. 741p.
- Kearns CA, Inouye DW & Waser NM. 1998. Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29: 83 -112.
- Keller I, Fluri P, & Imdorf A. 2005. Pollen nutrition and colony development in honey bees: PartI. *Bee World*, 86: 3 - 10.

- Kleinschmidt G. & Kondos, A. C. 1976. Influence of crude protein levels on colony production. *Austral Beekeeping*. 78: 36-39.
- Kuhn E & Ambrose J. 1984. Pollination of 'Delicious' apple by megachilid bees of the genus *Osmia* (Hymenoptera: Megachilidae). *Journal of the Kansas entomological society*. 57: 169-180.
- Labandeira C & Sepkolski J. 1993. Insect diversity in the fossil record. *Science*, 261: 310-315.
- Lombardo P, Cabrera D, Vignale B. 2010. Caracterización de la morfología y fenología floral y estudio de la compatibilidad en guayabo del país (*Acca sellowiana* (Berg) Burret). *Actas de 12º Congreso Nacional de Hortifruticultura*. pp 44.
- López A & Sotomayor C. 1992. Las abejas como polinizantes en frutales. *Chile Agrícola*, 17: 270 - 272.
- Losey J & Vaughan M. 2006 The Economic Value of Ecological services provided by insects. *BioScience*, 56: 311 - 323.
- Mayer D & Lunden J. 1988. Foraging behavior of honey bees on Manchurian and Red Delicious apple. *Journal of Entomological society. Brit. col.* 85:67-71.
- MGAP & DIEA Anuario estadístico agropecuario 2012. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Dirección de Estadísticas Agropecuarias. [www.mgap.gub.uy/diea](http://www.mgap.gub.uy/diea).
- Michener CD. 1974. *The Social Behavior of the Bees: a comparative study*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 404p

- Michener CD. 2007. The Bees of the World. Johns Hopkins University Press. 913p.
- Moreti A, Silva E & Aves M. (1998) Observacoes sobre a polinizacao entomofila da cultura da soja (*Glicine Max* Merrill) Boletim da indústria animal, 55: 91 - 94.
- Morse RA, Calderone NW. 2000. The value of honey bees as pollinators of U.S. crops in 2000. Bee Culture, 128: 1 - 15.
- Ollerton J. 1999. La evolución de las relaciones polinizador planta en los artrópodos. Boletín S.E.A., 26: 741 - 758.
- Ortiz-Pérez E, Cianzio S, Wiley H, Horner H, Davis W & Palmer R. 2007. Insect-mediated cross-pollination in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]: I. Agronomic valuation. Field Crops Research, 101: 259 - 268.
- Paneque V, Calaña J, Calderón M, Borges Y, Hernández T, Caruncho M. 2010. Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA).158 p.
- Patterson K. (1990) Effects on fruit set and quality in Feijoa (*Acca sellowiana* Burg Burret) New Zeland. Journal of Crop and Horticultural Science.18:127 - 131.
- Pepone FW. 1912. *Feijoa sellowiana*, It's history, culture, and varieties. Pomona College Journal of Economy Botany, II 1: 217 - 242.
- R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical. Computing, Vienna, Austria. URL. <http://www.R-project.org/>.
- Razeto B. 1999. Para entender la fruticultura.3a ed. Santiago, Universidad de Chile. 373p.

- Richards OW & Davies RG. 1984. Tratado de Entomología Imms. Vol. 2. Barcelona: Omega. 998p.
- Rivas M , Vignale B, Camussi G, Puppo M, Pritsch C. 2007. Los recursos genéticos de *Acca sellowiana* (Berg.) Burret en Uruguay. Avances de Investigación en Recursos Genéticos del Cono Sur II. p: 103-112. II, p.: 103 – 112.
- Robacker D, Flottum P, Samataro D. 1982. Why soy bean attract honey bees? American bee journal, 122: 481 - 485.
- Robacker D, Flottum P, Samataro D. 1983. Effects of climatic and edaphic factors on soybean flowers and the subsequent attractiveness of the plant to honey bees. Field crop research, 6: 267 - 278.
- Robinson W, Nowogrodzki R, Morse R. 1989. The value of honey bees as pollinators of U.S. Crops. American Bee Journal, 129: 411 - 423, 477 - 487.
- Roig F. 1992. Frutales raros cultivados en Mendoza. Multequina, 1: 147 - 162.
- Root A. 1976. ABC y XYZ de la Apicultura. 10<sup>a</sup> edición. Buenos Aires, Hacchette. 670p.
- Roubik D. 1992. *Ecology and Natural History of Tropical Bees*. University Press Cambridge, 514p.
- Salvagiotti F, Enrico J, Bodrero M & Bacigaluppo S. 2010. Producción de soja y uso eficiente de los recursos. Para mejorar la producción 45- INTA EEA Oliveros. pp.151-154.
- Salvarrey S, Arbulo N, Santos E, Invernizzi C. 2013a. Use of native Bumblebees, *Bombus atratus* and *Bombus bellicosus* to improve seed yield in Red Clover

- (*Trifolium pretense*) in Uruguay. Actas del Congreso XXXXIII International Apicultural Congress. Kyiv Ukraine pp.360.
- Salvarrey S, Arbulo N, Santos E, Invernizzi C. 2013b. Artificial breeding of native bumblebees *Bombus atratus* and *Bombus bellicosus* (Hymenoptera, Apidae) in Uruguay. Actas del Congreso XXXXIII International Apicultural Congress. Kyiv Ukraine. pp.363.
- Santos E, Mendoza Y, Díaz R, Harriet J y Campá J. 2009. Valor económico de la polinización realizada por abejas *Apis mellifera* en Uruguay, una aproximación. Publicación de la Jornada de Apicultura del INIA. Serie Actividades de Difusión N°568. pp.25 - 28.
- Santos E. & Daners G. 2010. Relevamiento de especies Nativas presentes en el Sur de Uruguay. Actas del Congreso Uruguayo de Zoología y X Jornadas de Zoología del Uruguay. Montevideo. pp.257.
- Santos E, Arbulo N, Salvarrey S, Invernizzi C. 2013. First study of distribution of species of the genus *Bombus* (Hymenoptera, Apidae) in Uruguay. Actas del Congreso XXXXIII International Apicultural Congress. Kyiv Ukraine. pp.360.
- Schneider GW & Scarbrough CC. 1980. Cultivo de árboles frutales, Compañía Editorial Continental S.A. México. 204p.
- Seeley, T. D. 1995. The wisdom of the hive: the social physiology of honey bee colonies. Cambridge (MA): Harvard University Press.

- Severson DW & Erikson Jr EH. 1984. Quantitative and qualitative variation in floral nectar of soy bean cultivars in Southeastern Missouri. *Environmental Entomology*, 13: 1091 - 1096.
- Sheffield S, Smith R, & Kevan P. 2005. Perfect syncarpy in apple (*Malus x domestica* 'Summerland McIntosh') and its implications for pollination, seed distribution and fruit production (Rosaceae: Maloideae) *Annals of botany (Ann Bot (Lond))*, 95: 583 – 59.
- Shepherd MD, Buchmann SL, Vaughan M, Black SH. 2003. Pollinator conservation handbook. Portland (OR): Xerces Society, 145p.
- Sim Yong Gu & Choi Young Eoun (1993) Influence of Honey bee pollination on soybean yield and yield components. *Korean Journal of Applied Entomology*, 32: 271 - 278.
- Soltéz M. 1997. Laws of bloom phenology by apple. *In*. Proc. International Symposium of Pollination. K W Richards (ed) January. Lethbridge, Alberta, Canada. ISHS. *Acta Horticola*, 437: 451 - 456.
- Southwick E & Southwick L. 1992. Estimating the value of honey bees (Hymenoptera: Apidae) as agricultural pollinators in the United States. *Journal of Economic Entomology*, 85: 621 - 633.
- Stewart A & Craig J. 1989. Factors affecting pollinator effectiveness in *Feijoa sellowiana*. *New Zealand Journal of crop and Horticultural Science*, 17: 145 - 154.

- Thomson J. & Goodell K. 2001. Pollen removal and deposition by honeybee and bumblebee visitors to apple and almond flowers. *Journal of Applied Ecology*, 38:1032 - 1044.
- Varela G, Rebuffo M. 1999. Utilización de abejorros (*Bombus* sp.) para aumentar la producción de semilla de trébol rojo (*Trifolium pratense*) en túneles de aislación. Montevideo: PROVA, INIA. 41p.
- Vicens N & Bosch J. 2000a. Weather-dependent pollinator activity in an apple orchard, with special reference to *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Megachilidae and Apidae). *Environ. Entomol.* 29: 413 - 420.
- Vicens N & Bosch J. 2000b. Pollination efficacy of *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Megachilidae, Apidae) on 'Red Delicious' Apple *Environmental Entomology*, 29: 235 - 40.
- Viejo J. & Ormosa C. 1997. Los insectos polinizadores una aproximación antropocéntrica. *Bol S.E.A.*, 20: 71 – 74.
- Vignale B & Bisio L. 2005. Selección de frutales nativos en Uruguay. *Revista Agrociencia (Uruguay)*, 9: 35 - 39.
- Westwood M. 1982. *Fruticultura de Zonas Templadas*. Madrid, Mundi-Prensa. 461p.
- Winston M. 1987. *The biology of the honey bee*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 281p.
- Yao J, Dong Y & Morris B. 2001. Parthenocarpic apple fruit production conferred by transposon insertion mutations in a MADS-box transcription factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 98: 1306 - 1311.

ZhaoL,SunH,PengB,LiJ,WangS,LiM,ZhangW,ZhangJ,WangY.2009. Pollinator effectso  
n genotypically distinct soybean cytoplasmic male sterile lines. *Crop Science*,  
49:2080-2086.

## ANEXO 1

Condiciones Climáticas registradas durante el estudio de *Malus domestica*

Fecha	Precipitación Efectiva mm	Temperatura Máxima °C	Temperatura Mínima °C	Viento 2m/km/24hs
20/10/2009	0	24.6	9.3	133.5
19/10/2009	0	23.4	12.2	80.5
18/10/2009	0	22	7.4	168.2
17/10/2009	0	20.7	8.6	150.3
16/10/2009	0	19.7	4.4	142.5
15/10/2009	0	15.2	1.4	150.9
14/10/2009	1.3	13	5.7	99.1
13/10/2009	0	25.6	7.4	233.1
12/10/2009	0	16.3	8.4	205.2
11/10/2009	0.5	16.3	10.2	174.3
10/10/2009	35.3	24.1	10.7	312.2
09/10/2009	0	20.4	4.3	241.2
08/10/2009	0	16.3	4.2	139.5
07/10/2009	0	13.8	6.6	128.8
06/10/2009	0	17.4	9.7	189.7
05/10/2009	0	21.3	13.6	118.4
04/10/2009	33.1	23.7	10.1	249.5
03/10/2009	0	22.6	6.7	161.4
02/10/2009	0	18.9	6	110.8
01/10/2009	3	13.1	7.7	71.5
30/09/2009	0	15.9	3.6	187
29/09/2009	0	13.7	4.8	126.7
28/09/2009	0	11.6	6.2	255.6
27/09/2009	1	14.5	9.8	346.3
26/09/2009	0	22.1	9.4	182
25/09/2009	0	19	4.9	157.3
24/09/2009	0	17.7	2.4	152.7
23/09/2009	0	14	5.5	102
22/09/2009	0	19.3	9.2	249.6
21/09/2009	0	21.8	7.3	139.5
20/09/2009	0	17.9	7.3	171.3

## ANEXO 2

Condiciones climáticas registradas durante el estudio de *Acca sellowiana*. En la estación experimental de INIA Las Brujas

Fecha	Precipitación Efectiva mm	Temperatura Máxima °C	Temperatura Mínima °C	Viento 2m/km/24hs
09/12/2009	0	27.2	14.8	208.3
08/12/2009	0	25.8	11.1	173.3
07/12/2009	0	20.8	7.6	140.8
06/12/2009	0	21.6	10.3	127.8
05/12/2009	0.9	18.9	9.3	126.8
04/12/2009	0	20.8	8	176.4
03/12/2009	0	19	10	131.4
02/12/2009	0	25.2	17.4	203.5
01/12/2009	1.8	26.3	12.4	172.1
30/11/2009	0	24.6	14.2	141.9
29/11/2009	20.1	26.2	17.1	114
28/11/2009	0	25.5	14.3	124.1
27/11/2009	6	21	12.9	130.7
26/11/2009	0	25.5	16.3	153.6
25/11/2009	9.6	29.9	18.6	200.4
24/11/2009	3.5	28.7	19.3	217
23/11/2009	0	27.2	16.7	157
22/11/2009	1	23.3	17.1	142.7
21/11/2009	9.2	21.5	16.3	163.7
20/11/2009	0	26	11.3	210.7
19/11/2009	0	22.7	14.7	193.4
18/11/2009	24.5	21.7	16.3	218.5
17/11/2009	18.4	22.5	17.1	176.4
16/11/2009	0	27.7	14	246.2
15/11/2009	0	26.2	12.6	139
14/11/2009	0	24.3	14.1	164.8
13/11/2009	5.2	29.7	17.4	131.9
12/11/2009	0	29.2	11.9	148.2
11/11/2009	0	26.6	10.5	149.3
10/11/2009	0	22.6	8.6	175
09/11/2009	1.2	23.5	9.5	174.4

### ANEXO 3

Condiciones climáticas registradas durante el estudio de *Acca sellowiana*. En la estación experimental de Facultad de Agronomía

Fecha	Precipitación Efectiva mm	Temperatura Máxima °C	Temperatura Mínima °C	Viento 2m/km/24hs
09/12/2009	0	29	16	289
08/12/2009	0	27.4	14	211.7
07/12/2009	0	23.3	15.2	254.5
06/12/2009	0	23.8	14.3	252.5
05/12/2009	0	27.4	14	176.1
04/12/2009	0	22	12.6	236.3
03/12/2009	0	26	17	157.3
02/12/2009	22.3	27.4	17.4	157.3
01/12/2009	0	29.7	15.5	220.8
30/11/2009	41.9	26.8	19.7	243.6
29/11/2009	0	32.8	21.4	270.8
28/11/2009	0	29.2	21.3	97.14
27/11/2009	0	31	20.4	179.2
26/11/2009	4.8	29.8	23.7	230.1
25/11/2009	0	33.8	21.8	108.3
24/11/2009	0	27	21	122.8
23/11/2009	4.5	24	21.8	192.8
22/11/2009	41.5	30	21	106.9
21/11/2009	5.2	22	17.4	162.9
20/11/2009	1.8	26	18.2	338.5
19/11/2009	18.2	28.4	19.7	208.2
18/11/2009	18.2	28	19.6	251.3
17/11/2009	40.9	32.6	20.2	236.3
16/11/2009	0	27.4	19.3	184.1
15/11/2009	1.3	22.7	18.7	183.5
14/11/2009	18.6	27.2	20.2	103.9
13/11/2009	0.4	29	22.4	138.2
12/11/2009	0	30	14	122.6
11/11/2009	0	26.6	12.6	189.1
10/11/2009	0	25.2	14.8	182.4
09/11/2009	0	27.6	10.7	194.9

