

Universidad de Morón
Facultad de Agronomía y Ciencias
Agroalimentarias

Polinización en *Berberis microphylla* G. Forst.
Estudio de la participación de los insectos
en esta fase de desarrollo.

Trabajo de Intensificación

Autor: Federico Javier Suárez. Matrícula N° 35011161

Directora: Ing. Agr. Dra. Silvia Radice. Investigadora Independiente CONICET. Prof Adjunta Cátedra de Fisiología Vegetal FAyCAUM.

Co directora: Ing. Agr. Miriam Arena. Investigadora Adjunta CADIC – CONICET. Prof. Adjunta Cátedra de Fruticultura FAyCAUM.

Consultor: Ing. Agr. Eduardo Merluzzi. Profesor Titular Cátedra de Zoología Agrícola FAyCAUM.

Año 2015

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue el estudio de los insectos visitantes de las flores en el período de floración de *Berberis microphylla* G. Forst (sinónimo de *B. buxifolia* Lam.) “calafate” en Ushuaia, Tierra del Fuego. Se registró la presencia de tres insectos, de los cuales dos se identificaron como dípteros de la familia *Syrphidae*, en particular, de los géneros *Allograpta* y *Platycheirus*, y un lepidóptero del género *Tatochila*. *Platycheirus* sp. se observó en un 84,86% de las visitas totales mientras que *Allograpta* sp. sólo en un 11,35%. Solo los sírfidos visitan de forma frecuente las flores como para poder ser considerados polinizadores de las mismas. Esta función la cumplen de manera indirecta tocando los estambres cuando introducen la cabeza en la flor para tomar el néctar. De este modo el polen queda adherido y puede ser transferido a otra flor. La actividad de los sírfidos fue corroborada mediante su estudio en cautiverio. Las flores colectadas de este experimento mostraron pétalos y sépalos marchitos, además de ennegrecimiento del gineceo debido al intenso contacto con el insecto.

Se observó una marcada correlación entre la actividad de los insectos y las condiciones climatológicas. Las temperaturas menores a 7,7 °C y/o los vientos por encima de 25,7 Km/h. impidieron la actividad normal de los insectos.

Palabras claves: calafate, insectos polinizadores, *Syrphidae*, Tierra del fuego.

Pollination on *Berberis microphylla* G. Forst.

Insect activity in this development stage.

ABSTRACT

The aim of this work was to study the flower visiting insects in the flowering period of *Berberis microphylla* G. Forst (synonym of *B. buxifolia* Lam.) "calafate" in Ushuaia, Tierra del Fuego. It was observed presence of three insects. Two insects were identified as *Diptera* family *Syrphidae* in particular genus *Allograpta* and *Platycheirus*, and the last was a *Lepidoptera* identified as *Tatochila*. *Platycheirus* sp. was observed in a 84.86% respect to the total visit recorded while *Allograpta* only 11.35%. Hoverflies can be considered pollinators of calafate because were the visitors more frequently. This function is performed indirectly touching the stamens when introduce their heads in the flower to take nectar. Thus pollen is adhered and can be transferred to another flower. Hoverflies activity was corroborated by behavior studied in captivity. The flowers collected from this experiment showed petals and sepals withered also gynoecium blackening due to the intense insect contact. Strong correlation between the insect activity and weather conditions are observed. Temperatures below 7.7 °C or winds above 25.7 Km/h prevented the normal insect activity.

Key words: barberry, pollinator insect, *Syrphidae*, Tierra del fuego

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todos los que creyeron en mí y que me apoyaron.

A mis amigos y familiares.

A mi esposa Analía quien me apoyó y alentó para continuar, cuando parecía que me iba a rendir.

A esta institución que me ha formado profesionalmente.

A la Dra. Ing. Agr. Silvia Radice, mi Directora de Tesis, por su presencia incondicional, sus aportes, críticas, comentarios, sugerencias durante el desarrollo de esta investigación y fundamentalmente su paciencia.

A la Ing. Agr. Miriam Arena, mi Co-directora de Tesis, por su asistencia profesional, aporte de información y grata atención en Tierra del Fuego.

Al Ing. Agr. Eduardo Merluzzi, por su asistencia profesional en la identificación de los insectos y sus muchas recomendaciones.

Al Decano de la FA y CA, Ing. Agr. Antonio Angrisani, que sin él todo esto no hubiera sido posible.

En especial se lo dedico a mis padres quienes me apoyaron en todo momento que son el pilar fundamental de mi formación y educación.

Introducción

La familia *Berberidaceae* está representada por 14 géneros con 650 especies que habitan las regiones templadas del Hemisferio Norte, Andes y Sudamérica (Orsi 1984).

Las especies del género *Berberis* son arbustos o pequeños árboles, valiosos por sus propiedades medicinales, tintóreas y alimenticias (Fajardo Morales, 1987). En Argentina está representado por 26 especies distribuidas en todo el país (Orsi 1984). En la Patagonia, el género *Berberis* posee una distribución amplia desde Neuquén hasta Tierra del Fuego y está bien representado por 16 especies de arbustos nativos (Orsi, 1984; Bottini, 2000). Sin embargo, según una clasificación posterior del género realizada por Landrum (1999), el número de especies es menor al citado por los trabajos previos de Orsi (1984), dado que Landrum agrupa a especies como *B. buxifolia*, *B. microphylla* y *B. heterophylla* bajo el mismo nombre de *Berberis microphylla* G. Forst.

B. microphylla G. Forst (sinónimo de *B. buxifolia* Lam.) “calafate” es un arbusto siempre verde y espinoso, que puede llegar hasta los 4 m de altura. En Tierra del Fuego a menudo crece en los montes bajos, en los márgenes y claros del bosque de *Nothofagus*, en áreas húmedas de estepas y a lo largo de ríos y arroyos (Moore, 1983). Es considerado un producto forestal no maderable (Tacón Clavain, 2004), que se reproduce por semillas (Arena y Martínez Pastur, 1994), por rizomas (Arena *et al.*, 1998) o también por cultivo *in vitro* (Arena *et al.*, 2000). Florece en la primavera y sus frutos maduran hacia mediados del verano (Arena *et al.*, 2003). Las flores son solitarias, axilares, bisexuales, actinomorfas e hipóginas. El cáliz está compuesto por dos ciclos de 3 sépalos libres y de color amarillo. La corola tiene 6 pétalos libres de color naranja amarillento. Cada pétalo tiene 2 nectarios en posición basal. El

androceo está formado por 6 estambres opuestos a los pétalos con dos tecas de dehiscencia valvar (Arena *et al.*, 2011). Los granos de polen son tricolpados y numerosos. El gineceo es monocarpelar, con un ovario súpero unilocular que contiene numerosos óvulos anátropos con placentación basal. El estigma produce abundante secreción. El estilo es muy corto o ausente. El fruto es una baya negra azulada de 8 a 10 mm de diámetro con un promedio de 3-18 semillas (Arena *et al.*, 2011).

En los últimos años, se incrementó la demanda de frutos de estos arbustos para la elaboración de diversos productos como dulces y jaleas, pulpas para la elaboración de helados, bebidas sin alcohol como el "Terma Patagónico", a su vez que se emplean en productos cosméticos como "Shampoo" y cremas capilares "Biferdil". A esto debe sumarse el hecho que recientemente se ha incorporado al Código Alimentario Argentino por Resolución Conjunta 22/2006 y 409/2006 la inclusión de frutas originarias de la zona andina como los *Berberis*, autorizando su empleo en productos alimenticios como dulces, mermeladas, licores, helados y confites. Además, la United States Department of Agriculture (USDA) ha aprobado el ingreso a los Estados Unidos del calafate, por lo cual se halla en la lista de frutas y vegetales de dicho organismo. Se estima que anualmente se cosechan no menos de 10 toneladas de frutos de calafate para los usos descriptos. Cabe destacar que la totalidad de estos frutos provienen de las poblaciones naturales de la Patagonia y que actualmente se emplean métodos de cosecha totalmente nocivos para las plantas porque la cosecha de frutos se lleva a cabo conjuntamente con la rotura de ramas y posterior daño de las plantas, hecho que resulta perjudicial para las poblaciones naturales.

El conocimiento sobre la floración y la polinización es indispensable para maximizar el potencial de cultivo de frutas (Nyéki and Solstész 1996). Por tal motivo, desde

hace ya unos años, se inició un estudio particular sobre este tema. En la actualidad se han determinado sus fases de crecimiento y reproducción (Arena *et al.*, 2013) como también la formación y crecimiento de sus yemas florales (Arena and Radice, 2014). La fecundación de los *Berberis* patagónicos ha sido clasificada como del tipo "cruzada", (Orsi, 1984) aunque también Hegi (1958), consideró la autogamia diciendo que en ausencia de insectos visitantes la flor trata de autofecundarse marchitándose. Romeo *et al.* (2005) también consideran a las flores de este género como autógamas. Las anteras de esta especie poseen un movimiento retráctil, denominado sismonastia, que ante cualquier estímulo externo se disparan hacia el estigma. Este movimiento de las anteras podría mejorar el contacto del polen de las anteras con los polinizadores aunque también podría considerarse que facilitaría la autofecundación (Rens, 2010). En *B. trifoliata* se observó que el mecanismo de disparo facilitaba la transferencia del polen entre flores por parte de los insectos dado que al tocar los estigmas receptivos, el polen de la superficie del cuerpo del insecto que ya había visitado otras flores, quedaba adherido a los mismos completando así la polinización cruzada (Angulo, 2014).

En otras especies de *Berberis* se observó la visita de las flores por parte de dípteros, himenópteros como abejas y abejorros, coleópteros y escarabajos (Urquieta, 2010).

En la actualidad, sucesivas pruebas de tratamientos de polinización realizadas en años consecutivos por Radice y Arena (datos aún no publicados) demuestran que solamente el fruto puede crecer y madurar cuando el polen interviniente es de una flor diferente a la del pistilo. Esto significa que la actividad de los insectos visitantes en la fase de floración puede ser fundamental para este proceso de polinización y fecundación, sin embargo no se conocen aún estudios particulares sobre este tema. Por tal motivo en el siguiente estudio se desarrollará la intervención de los insectos en la fase de floración del calafate.

Materiales y Métodos

Actividades en el campo

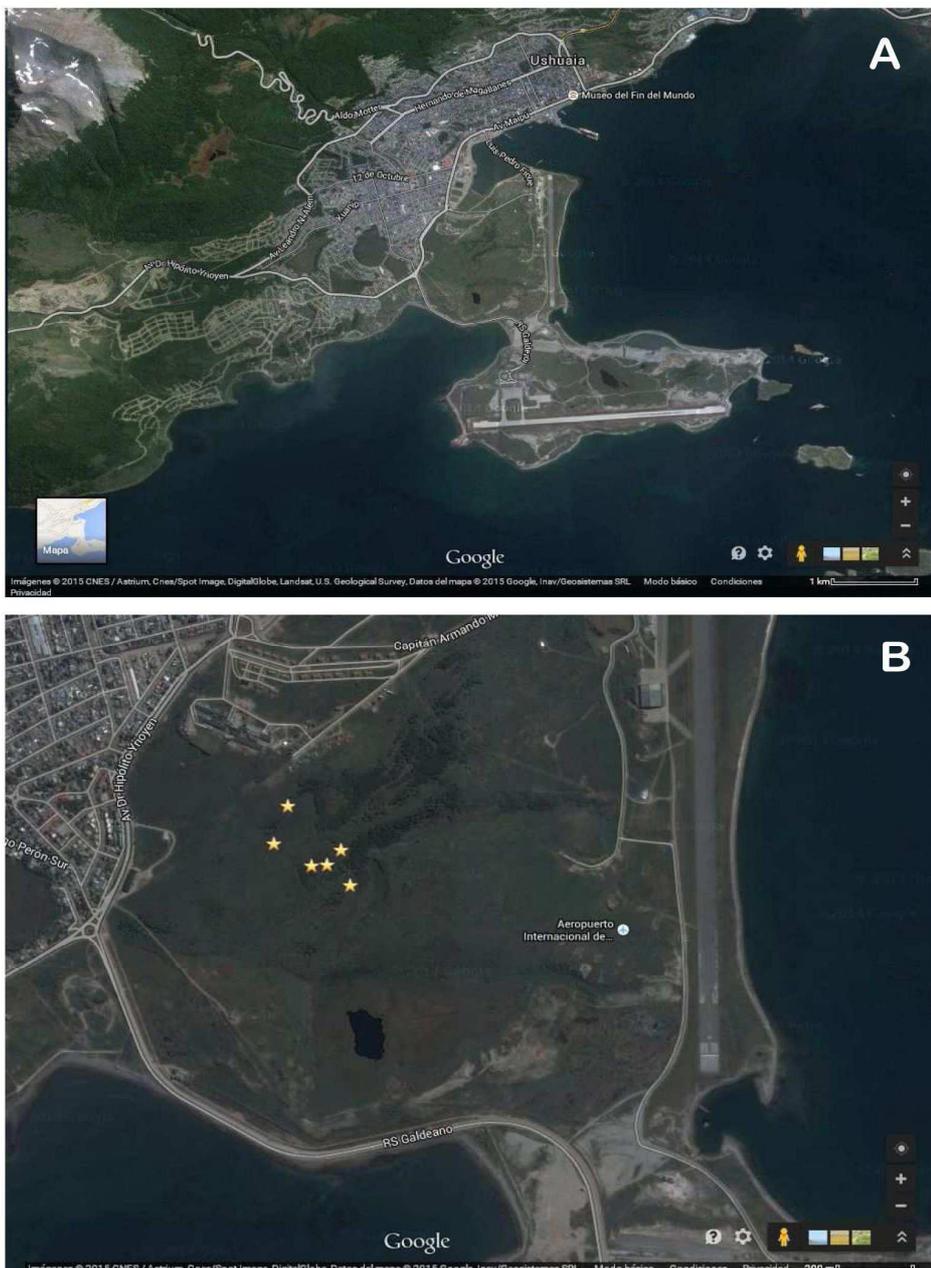


Figura 1: Fotografía satelital de la zona de estudio. A, Ciudad de Ushuaia, Aeropuerto y campo de la Prefectura; **B,** Área de la selección de poblaciones de *B. microphylla* silvestres. Las estrellas representan los campos de mediciones de la actividad de los insectos.

Las observaciones se realizaron sobre arbustos en fase de plena floración crecidos de manera espontánea en el campo experimental perteneciente a la Prefectura de

Ushuaia, Tierra del Fuego, Argentina (54° 48' SL, 68° 19' WL, 30MASL) (Fig. 1).

La oferta floral se cuantificó a través del registro fotográfico de arbustos con flores en fase de antesis y en plena floración (Fig. 2) que luego fueron procesadas por el programa ImageJ 1.48. Se registraron 7 arbustos sobre los cuales se contaron 5 campos para cada uno de ellos. Los valores se expresaron en N° de flores/dm².



Figura 2: Arbusto de *B. microphylla* silvestre. A. Vista general del arbusto con medida patrón; **B,** flor de *B. microphylla* en fase de antesis. El patrón representa 14cm.

El período de observación de la actividad de los insectos y del registro de datos a campo fue entre el 20 de octubre y el 4 de noviembre del año 2014. Las observaciones diarias entre las 9:00 y 18:00 horas fueron visuales, fotográficas y a través de videos. Es importante aclarar que durante los primeros días se hicieron registros de aprendizaje y de familiarización con el tema. A excepción del día 29 de octubre en el cual los cinco participantes del grupo de estudio colaboraron con el registro de datos, en el resto de los días las observaciones y registros fueron personales.

Descripción de las tareas realizadas en el campo

1. Fase floral en la cual se realiza el pecoreo según Arena *et al.*, (2013)
 2. La presencia de insectos que visitaron las flores de *B. microphylla* diferenciándolos con siglas arbitrarias.
 3. La hora y las condiciones meteorológicas del momento de la actividad de dichos insectos.
 4. El comportamiento y modo de acción de cada uno de los insectos diferentes que visitaron las flores.
 5. El tiempo de permanencia sobre las flores y la reiteración de la visita por parte del mismo insecto.
 6. La colección de diferentes ejemplares para cada una de las especies de insectos visitantes para su posterior observación bajo microscopio estereoscópico y clasificación taxonómica. La conservación se hizo en solución alcohólica (70°).
- Durante todo el período de estudio se registraron 358 visitas florales por parte de insectos las cuales fueron realizadas por 178 ejemplares pertenecientes a 3 especies de insectos diferentes.

Actividades en el laboratorio

Los insectos capturados se observaron, midieron y registrados de manera fotográfica bajo microscopio estereocópico marca Leica MZ 75 equipada con equipo fotográfico digital DC100. Algunos materiales se observaron con la ayuda del microscopio electrónico de barrido (MEB) marca Philips XL30.

La clasificación taxonómica se hizo sobre la base de sus características morfológicas y con la ayuda de la clave de Vockeroth and Thompson (1987) y el estudio de Núñez

Los insectos coleccionados después de varias visitas a flores de calafate fueron revisados bajo microscopio estereoscópico de manera minuciosa para localizar granos de polen. Sobre los insectos en los cuales se observó polen y el sector del cuerpo afectado.

Los registros de la presencia y la actividad de los insectos como así también de la oferta floral se analizaron estadísticamente a través del programa SPSS (Statistics 19).

La presencia y la actividad de los insectos se correlacionaron además con la temperatura y la velocidad del viento al momento del registro. Para esto se utilizaron los datos climáticos horarios registrados por la estación meteorológica del CADIC-CONICET.

Actividad de insectos en cautiverio

Las experiencias se hicieron sobre ramas con capullos florales de *B. microphylla* que previamente se seleccionaron sobre los arbustos y se mantuvieron cubiertas con bolsa de tela para evitar el contacto con cualquier agente externo que pudiese actuar en la polinización de la flor hasta la fase de antesis.

Las ramas una vez separadas del arbusto, se mantuvieron hidratadas con un algodón húmedo en la sección de corte y protegidas en la base con film de polietileno. Para la prueba se utilizaron Erlenmeyers de 3L de capacidad para el encierro de las ramas con flores en fase de antesis y los sírfidos separados por especie más un tratamiento testigo sin insectos (Fig. 3). La duración de la experiencia fue de 48h, después de este tiempo, se recolectaron las flores y los insectos. Ambos materiales se fotografiaron. El material vegetal se fijó en solución

FAA compuesta por alcohol 96° (50%), formol (10%), ácido acético (5%) y agua destilada (35%). Los insectos se conservaron en alcohol 70°.

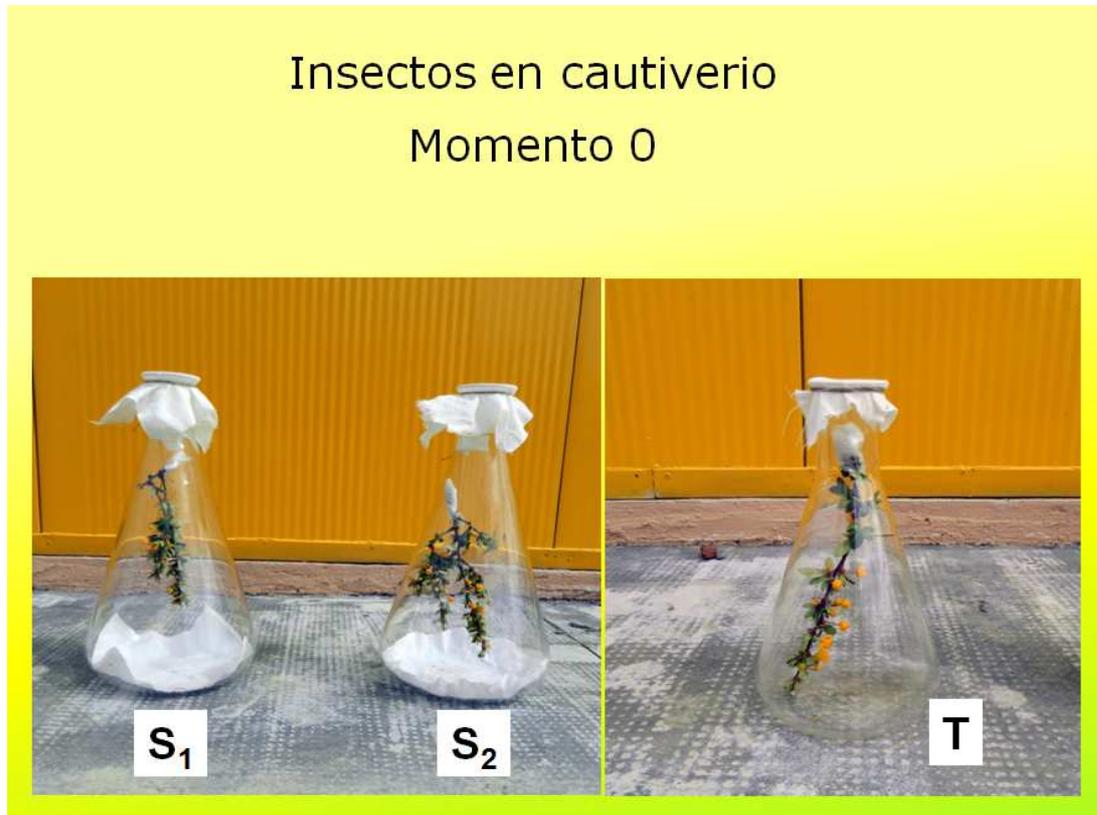


Figura 3: Insectos en cautiverio al momento de inicio del experimento. S₁, Erlenmeyer con *Platichirus* sp.; S₂, Erlenmeyer con *Allograpta* sp.; T, Erlenmeyer sin insectos (Testigo).

Resultados**Actividades en el campo**

Numero de flores sobre arbustos de Berberis microphylla G. Forst en plena floración.

Los resultados obtenidos a través del recuento de flores de los arbustos registrados por fotos mostraron una oferta promedio de 21,2 flores/dm² (Tabla 1).

Tabla 1: Número de flores de *B. microphylla* por arbusto en la parcela de estudio de observaciones. Los resultados se expresan en promedio \pm ES.

Nº Arbusto	X \pm ES
1	30,20 \pm 11,389 ab
2	35,80 \pm 5,586 a
3	20,00 \pm 4,183 b
4	19,20 \pm 7,596 abc
5	15,60 \pm 8,355 bc
6	21,33 \pm 11,372 abc
7	6,20 \pm 4,025 c

Letras diferentes entre los valores de los arbustos medidos indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$)

Abundancia y frecuencia del pecoreo. La especie que visitó con mayor frecuencia las flores de *B. microphylla* fue *Platycheirus sp.* En efecto, según los registros realizados entre los días 20 de octubre y 4 de noviembre del año 2014 su presencia respecto al total de las observaciones fue de 84,86%. El segundo visitante en importancia fue *Allograpta sp.* con un 11,35% y mucho menos frecuente fue la presencia de *Tatochila sp.* con un 3,78%.

Comportamiento de los insectos durante la floración de Berberis microphylla G. Forst. *Allograpta sp.* y *Platycheirus sp.* mostraron un comportamiento similar. Estos dos sírfidos llegan a las flores de calafate desde diversas direcciones y al aproximarse a los arbustos, cambian a un vuelo estacionario en busca de las flores que están en la fase adecuada para el pecoreo.

Las flores de calafate son por lo general péndulas, en este caso los sírfidos se sostienen con sus patas de los bordes de la corola (Fig. 4C) mientras que en flores de posición invertida se pueden posar directamente sobre la corola. Acto seguido, el insecto explora rápidamente la flor introduciendo su probóscide alrededor de los estambres y en la base de la corola en busca de su principal alimento, el néctar. Esta modalidad de acción hace que la cabeza del insecto se introduzca en parte rozando los estambres y probablemente también el estigma. No siempre repite los mismos movimientos sobre la flor. El sírfido explora la zona y se moviliza tanto en sentido horario como en sentido anti horario, como también se puede quedar por largo tiempo en la misma posición, sin girar sobre la flor. En efecto se registraron tiempos de consumo variables de 15 segundos a 14 minutos sobre la misma flor. Períodos de trabajo menores a 15 segundos se consideraron como tiempos no suficientes para el consumo pero sí, para la búsqueda de la recompensa. Se observaron también otras tareas realizadas por los sírfidos como la limpieza de sus patas tanto de las anteriores, las medias como de las posteriores, como también de su aparato bucal, los ojos y el de las alas. También se los ha observado descansar con su cuerpo en dirección al sol, sobre todo en días de temperaturas bajas (Fig. 4B). Para este comportamiento se registraron tiempos variables de 5 segundos a 20 minutos.

El cambio de flor lo realiza de diversas maneras. Si hay una flor muy cercana que ofrece recompensa puede llegar a la misma caminando, si se encuentra a varios centímetros de distancia también puede acercarse caminando sobre las hojas y los tallos o puede tomar vuelo hasta la flor elegida, de lo contrario puede trasladarse a otro sitio volando. Se observó también su retorno a flores ya visitadas para continuar con el pecoreo.

Los sírfidos visitan las flores de calafate en busca de recompensa tal como lo son el polen y el néctar. El insecto, desde el exterior de la flor introduce su probóscide e

indirectamente el polen queda adherido (Fig. 4A). El consumo del polen se corroboró a través de la observación de los insectos capturados bajo microscopio estereoscópico en los cuales se encontró polen en el abdomen.

Por otro lado, para consumir el néctar, el sírfido se ve obligado a introducir la cabeza hasta la base de la flor, es decir en la zona de inserción de las piezas florales con el pedúnculo. Los nectarios situados en la base de los pétalos dejan fluir el néctar que queda retenido en parte, en la corola y parte se escurre por la zona externa de los pétalos. El sírfido toma el néctar del interior de la flor y también aprovecha el néctar que se escurre hacia afuera.



Figura 4: *Platycheirus* sp. vista a campo . **A**, introduciendo la probóscide en una flor de *B. microphylla*; **B**, en reposo; **C**, alimentándose. La barra representa 5mm.

Comportamiento de Tatochila sp. La mariposa vuela de arbusto en arbusto posándose en una o dos flores por arbusto (Fig. 7A-B). Introduce la espiritrompa, para consumir el néctar de la flor, unos pocos segundos (de 5 a 30 segundos) y rápidamente se aleja en busca de otra flor. La tarea de seguimiento visual se hizo imposible por la velocidad de desplazamiento y las distancias recorridas.

Actividades en laboratorio

Identificación sistemática de los insectos visitantes de Berberis microphylla G. Forst.

En los días de observación a campo se registró un escaso número de especies de insectos. En efecto, sólo se observó la presencia de dos dípteros y un lepidóptero. Según la clave de Vockeroth and Thompson (1987), los dos dípteros se identificaron como de la familia *Syrphidae* en particular de los géneros *Allograpta* y *Platycheirus*. El lepidóptero fue identificado como de la familia *Pieridae* y del género *Tatochila*.

Platycheirus sp. Posee contextura esbelta y mide 5,5 a 8 mm de longitud y 1,5 a 2,5 mm de ancho (Fig. 5A). La cabeza es de coloración grisácea, con tubérculo y abundante presencia de pelos negros, la apertura oral es dos veces más larga que ancha y con el ápice oral a nivel de la base de la antena. Las antenas son cortas (Fig. 5B-C). El tórax y el escutelo son de color negro y en el tórax se observa abundante cantidad de pelos. Las alas presentan una vena espuria que es característica de esta familia (Fig. 5D). El abdomen es más estrecho que el tórax es de color negro en la zona dorsal y tiene tres pares de manchas semicirculares de color gris claro (Fig. 5E).

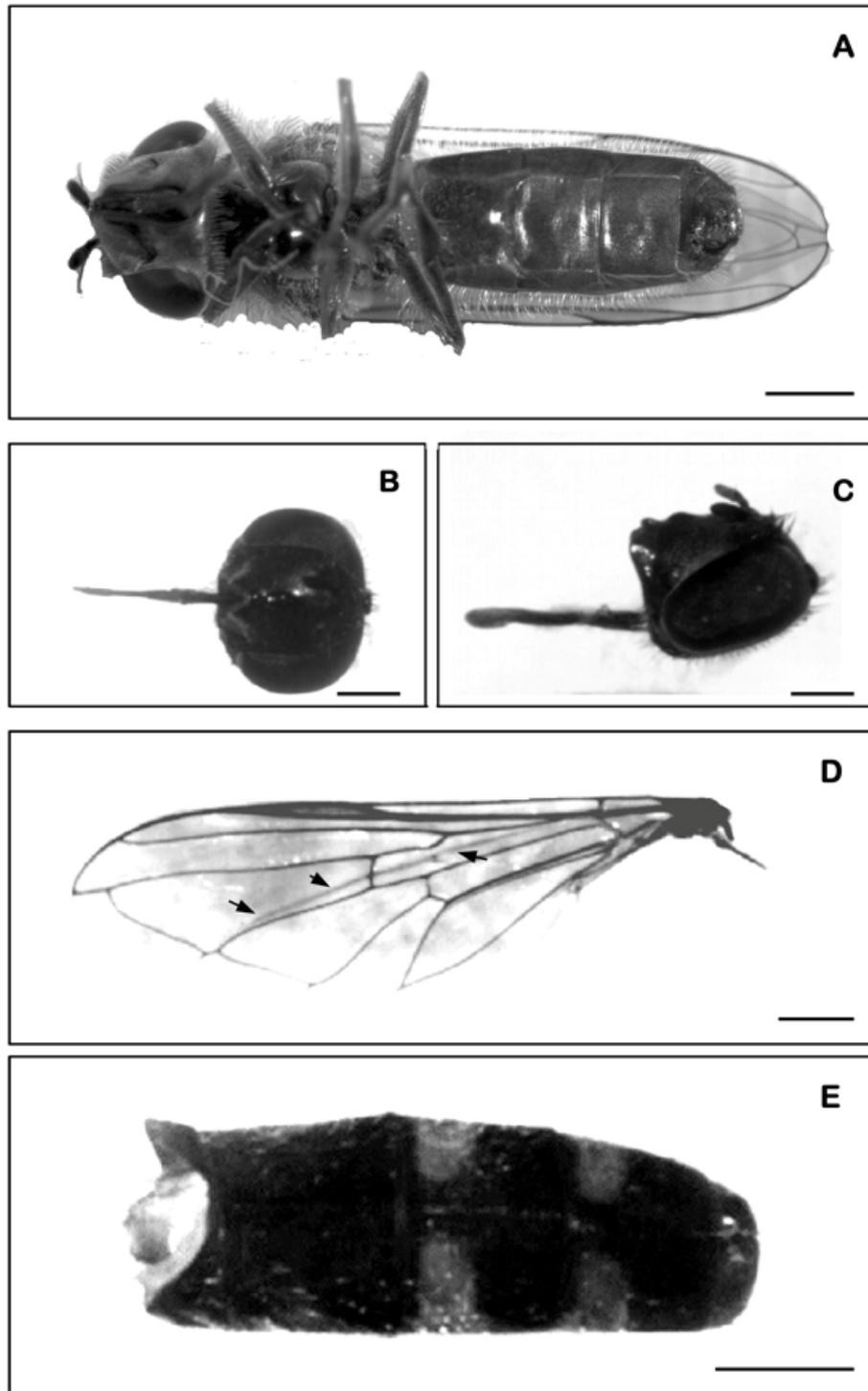


Figura 5: *Platycheirus* sp. vista bajo microscopio estereoscópico. A, Vista ventral de *Platycheirus*; B - C, cabeza; B, Vista frontal; C, Vista lateral; D, Ala, vena spuria (flechas); E, Vista dorsal del abdomen. Las barras representan 1mm.

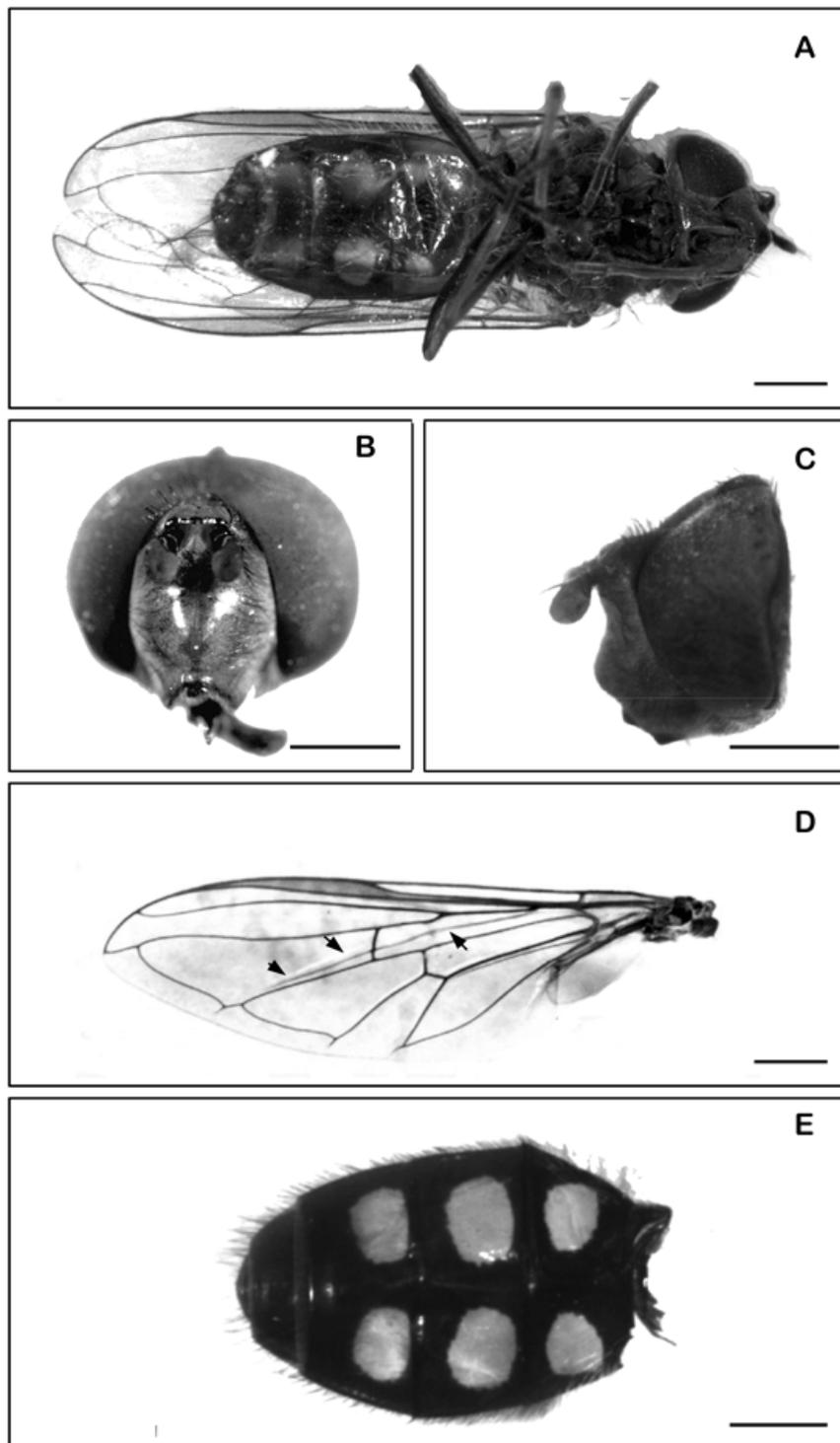


Figura 6: *Allograpta* sp. vista bajo microscopio estereoscópico. **A**, Vista ventral de *Allograpta*; **B - C**, cabeza; **B**, Vista frontal; **C**, Vista lateral; **D**, Ala, vena espuria (flechas); **E**, Vista dorsal del abdomen. Las barras representan 1mm.

Allograpta sp. A diferencia del ya descrito, este sírfido es de contextura robusta, de longitud variable entre 7 y 11 mm con un grosor de 3 a 4 mm (Fig. 6A). La cabeza amarilla, con tubérculo. Tiene una apertura oral de 1,5 veces más larga que ancha con el ápice oral a nivel de la base de la antena. Las antenas son cortas situadas sobre una base de color marrón oscuro (Fig. 6B-C). El tórax es negro con abundante cantidad de pelos amarillos. El escutelo es también amarillo y se extiende en parte sobre el primer segmento del abdomen. Las alas poseen también una vena espuria (Fig. 6D). El abdomen es ovalado y en su zona dorsal, de color marrón oscuro de base, se observan tres pares de manchas circulares de color amarillento (dos por segmento), la zona ventral es traslúcida (Fig. 6E).

Tatochilas sp. La mariposa tiene una envergadura alar de entre 32 y 50 mm (Fig. 7). Las alas son blancas con manchas negras en su faz dorsal (Fig. 7A) mientras que en su faz ventral presentan un diseño a rayas de color amarillo intenso y manchas anaranjadas (Fig. 7B-C). La cabeza posee ojos voluminosos y salientes además de palpos largos, agudos y pubescentes. Las antenas tienen un tamaño de aproximadamente la mitad de la longitud de las alas anteriores. En ellas se observan anillos blancos y negros alternados y terminan en una maza corta cuyo sector final es de color celeste. El tórax y el abdomen son muy pubescentes. Las patas de *Tatochilas* sp. son delgadas.

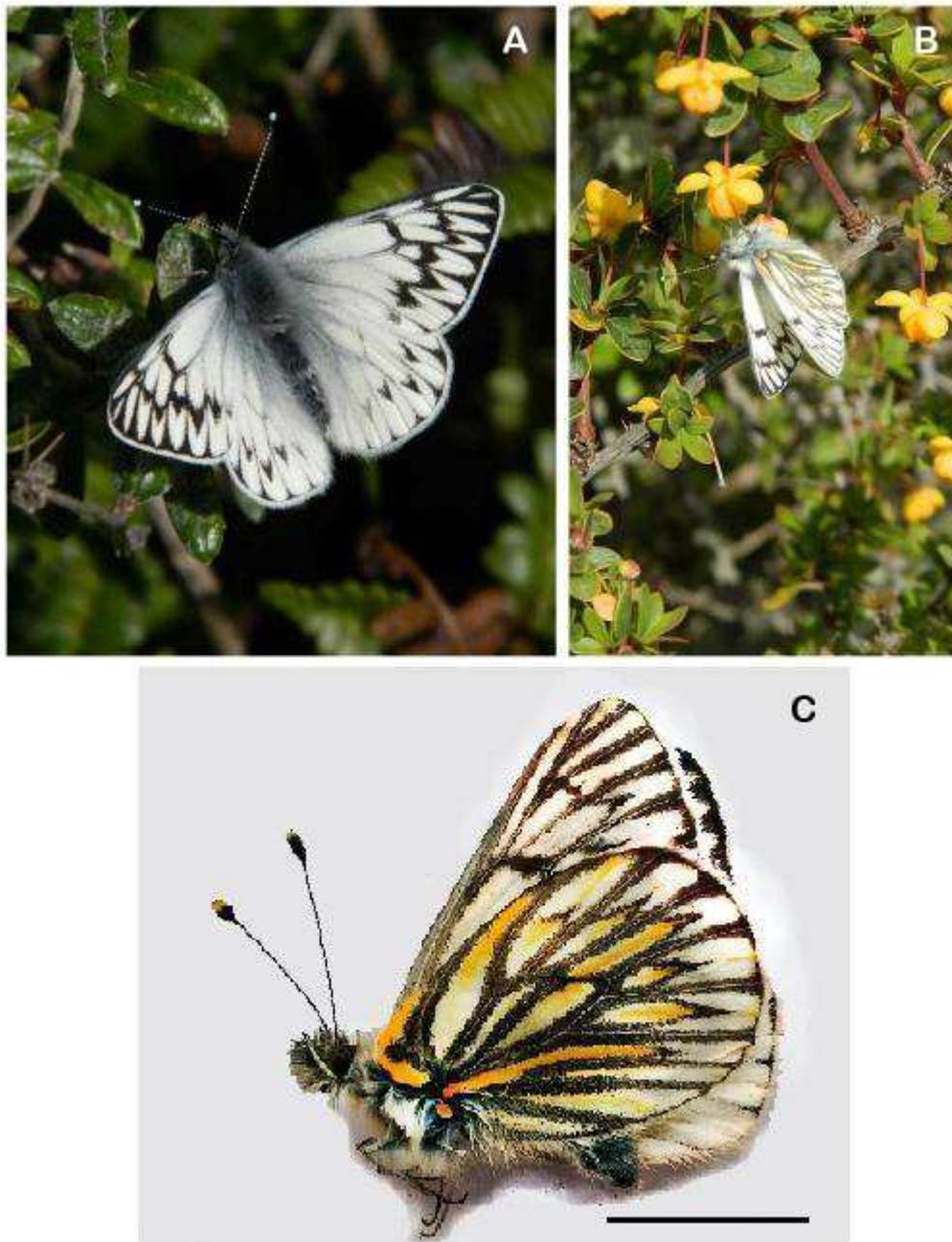


Figura 7: *Tatochila sp* vista a campo y en laboratorio. **A**, *Tatochila sp* en fase de reposo a campo; **B**, Introduciendo la espiritrompa en una flor de *B. microphylla*; **C**, Vista lateral en laboratorio con las alas plegadas. La barra representa 1cm.

Actividad de los insectos visitantes de flores de calafate. Se observó una abundante presencia de sírfidos durante los días 20, 21, 22, 25, 27, 29 de octubre y los días 2 y 3 de noviembre (Fig. 8-9). Durante todo el período de estudio se observó que la actividad de estos insectos se daba en momentos del día con temperaturas superiores a 7,7 °C, baja nubosidad y vientos leves (no superiores a 25,7 Km/h).

Durante los tres primeros días, la frecuencia de actividad de insectos fue baja, aún durante el día 21 en el cual se registraron algunas intensas ráfagas de viento (Fig. 8).

Uno de los valores no registrados por la estación meteorológica fue el de heliofanía o nivel de nubosidad, sin embargo, junto con los registros de actividad de insectos se registró también de manera grosera, la presencia de nubes. Tal es el caso del día 22, en el cual se registró una escasa actividad de insectos y una abundante nubosidad (datos no mostrados). Durante los días 23 y 24 de octubre no se observó actividad de ninguno de los tres insectos visitantes de *B. microphylla*, a su vez se registraron vientos con ráfagas de hasta 65 km/h y vientos constantes de 10 a 35 km/h (Fig. 8).

Por otro lado, durante el día 27 de octubre el cual fue de intensa velocidad del viento con intensas y abundantes ráfagas, se registró el seguimiento de la actividad de insectos en una zona baja y protegida por un monte de *Nothofagus sp.*

Durante el 28 de octubre se observó sólo un sírfido en actividad. Las condiciones climáticas fueron de bajas temperaturas, menores a 7 °C, y el viento elevado con ráfagas de hasta 50 km/h (Fig. 8). Durante el día 29 de octubre se registró la actividad de los insectos en la misma zona utilizada el día 27. Entre las 11:00 y 15:00 horas se observó una gran actividad de los insectos. En efecto, de las 179 observaciones realizadas, un 84,86% de actividad fue de *Platichirus sp.*, 11,35% de *Allograpta sp.* y 3,78% de *Tatochila sp.*

Entre los días 30 de octubre y 1 de noviembre se produjeron nevadas por lo tanto en esos días no se registró la actividad de insectos la cual se retomó parcialmente durante los días 2 y 3 de noviembre entre las horas 10:00 y 12:00 (Fig. 9).

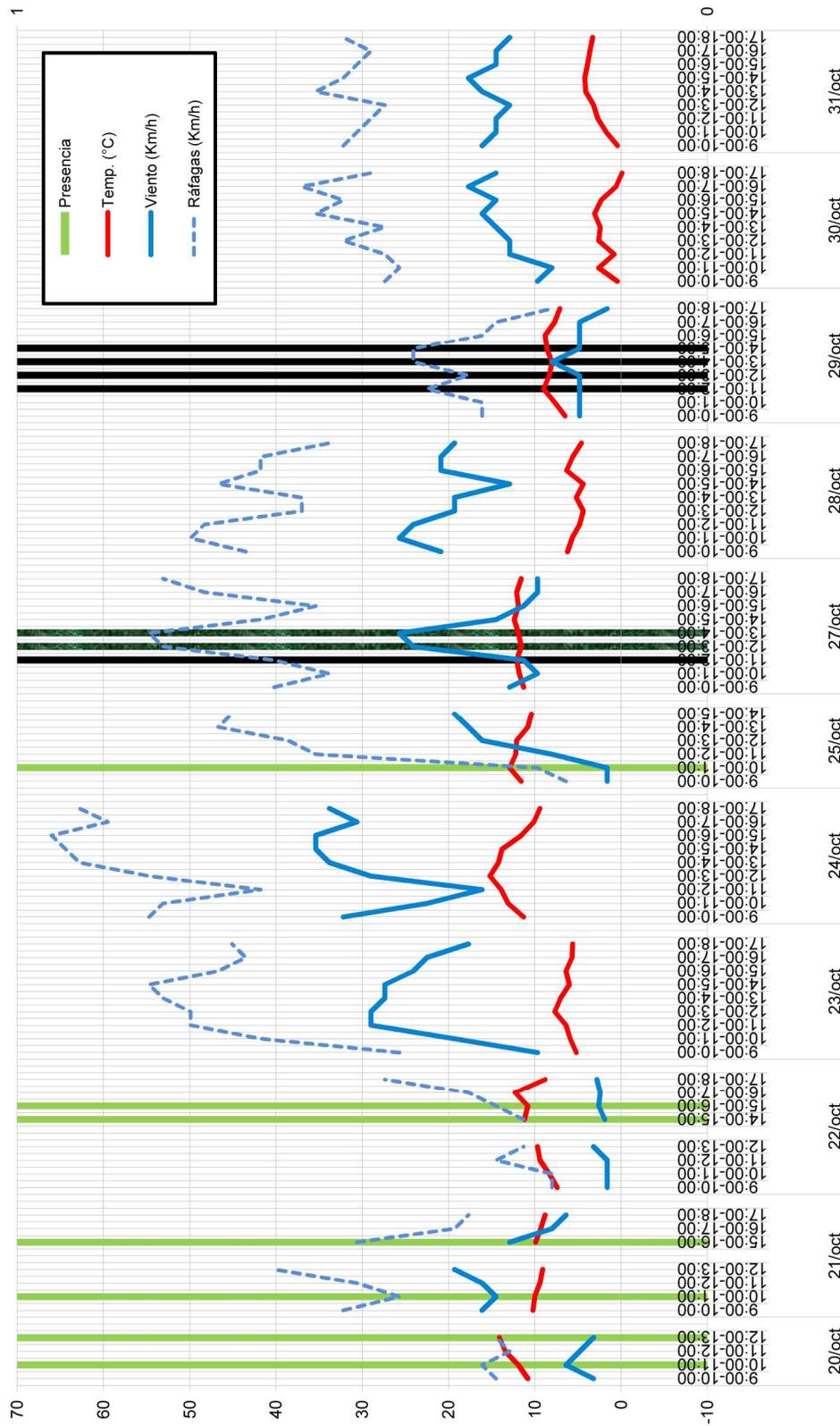


Figura 8: Presencia de insectos visitantes de las flores de *B. microphylla* y condiciones climatológicas durante los días 20 a 31 de octubre. Las barras indican la presencia de insectos, las negras exclusivamente en zonas protegidas del viento.

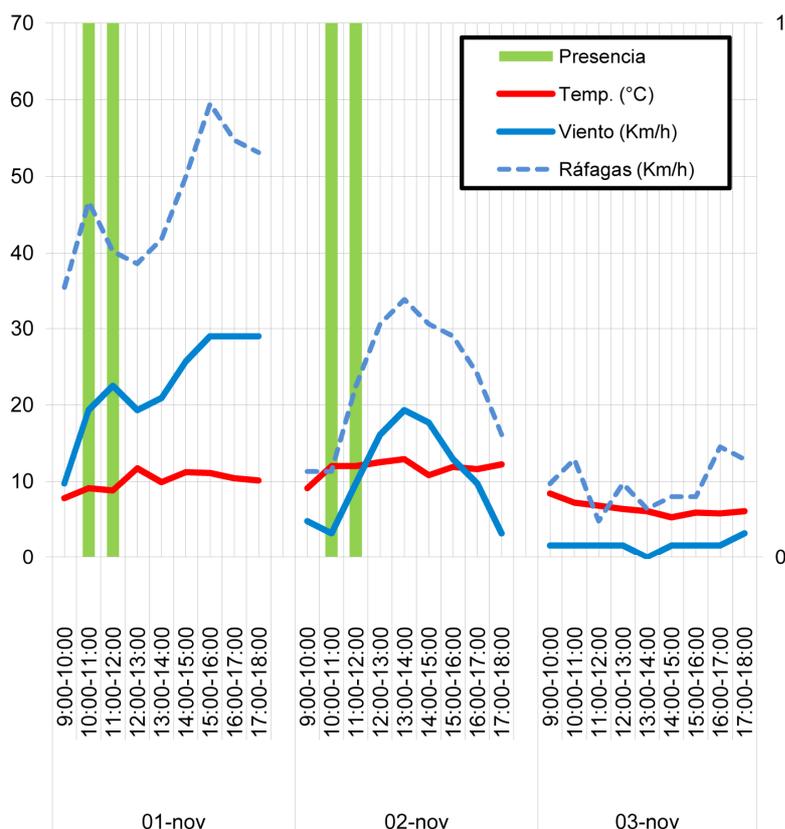


Figura 9: Presencia de insectos visitantes de las flores de *B. microphylla* y condiciones climatológicas durante los días 1 a 3 de noviembre. Las barras verdes indican la presencias de insectos.

Correlaciones entre los factores climáticos y las tareas de reposo, consumo y búsqueda para los insectos en general. Se observó una correlación positiva altamente significativa entre la presencia de los insectos y la temperatura ($r: 0,35$ Signif.: 0,000). En verdad con temperaturas menores a $7,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ no se observó presencia de ningún insecto en las flores de calafate.

Respecto de la HR y el viento se observó que ambos factores fueron significativamente negativos para el pecoreo de los insectos. El análisis de estos factores resultó en una correlación de $r: -0,287$ y $r: -0,229$ para HR y velocidad del viento respectivamente (Signif. 0,01). Sólo se observó presencia de insectos cuando el viento no superó $25,7\text{ Km/h}$ y la HR 74% .

Se observó correlación positiva entre las tareas realizadas por los insectos con la

temperatura ambiente ($r: 0,141$ Signif. $0,008$) y significativa con la humedad ($r: 0,113$ Signif. $0,03$), es decir que a mayores valores de estos dos parámetros se observó un aumento del tiempo de consumo de los insectos. Sin embargo, no se encontró correlación directa entre la velocidad de viento y las tareas de los insectos.

Según la especie de insecto y los condiciones climáticas se observó una correlación positiva entre las tareas de *Platycheirus sp.* y la temperatura ambiente ($r: 0,149$ Signif. $0,01$) y una correlación negativa entre la presencia y la humedad ambiente. Respecto a las tareas realizadas por los insectos, se encontró una significativa correlación positiva en *Allograpta sp.* (con un nivel de $0,05$ y una correlación Pearson de $0,381$).

Eficiencia del insecto en la polinización de B. microphylla. Se observó la presencia de granos de polen sobre partes del cuerpo de ambas especies de sírfidos. Los granos de polen se observaron de manera aislada o en grupos de no más de diez (Fig. 10). Según el comportamiento de consumo de los sírfidos ya descrito, el insecto toma contacto con los estambres y el estigma principalmente con la cabeza cuando introduce su probóscide para alcanzar los nectarios, es decir que al momento del consumo de néctar. Esta modalidad de consumo también provoca la activación del filamento estaminal.

En el caso de *Tatochila sp.* se encontraron varios granos de polen adheridos en la espiritrompa (Fig. 11).

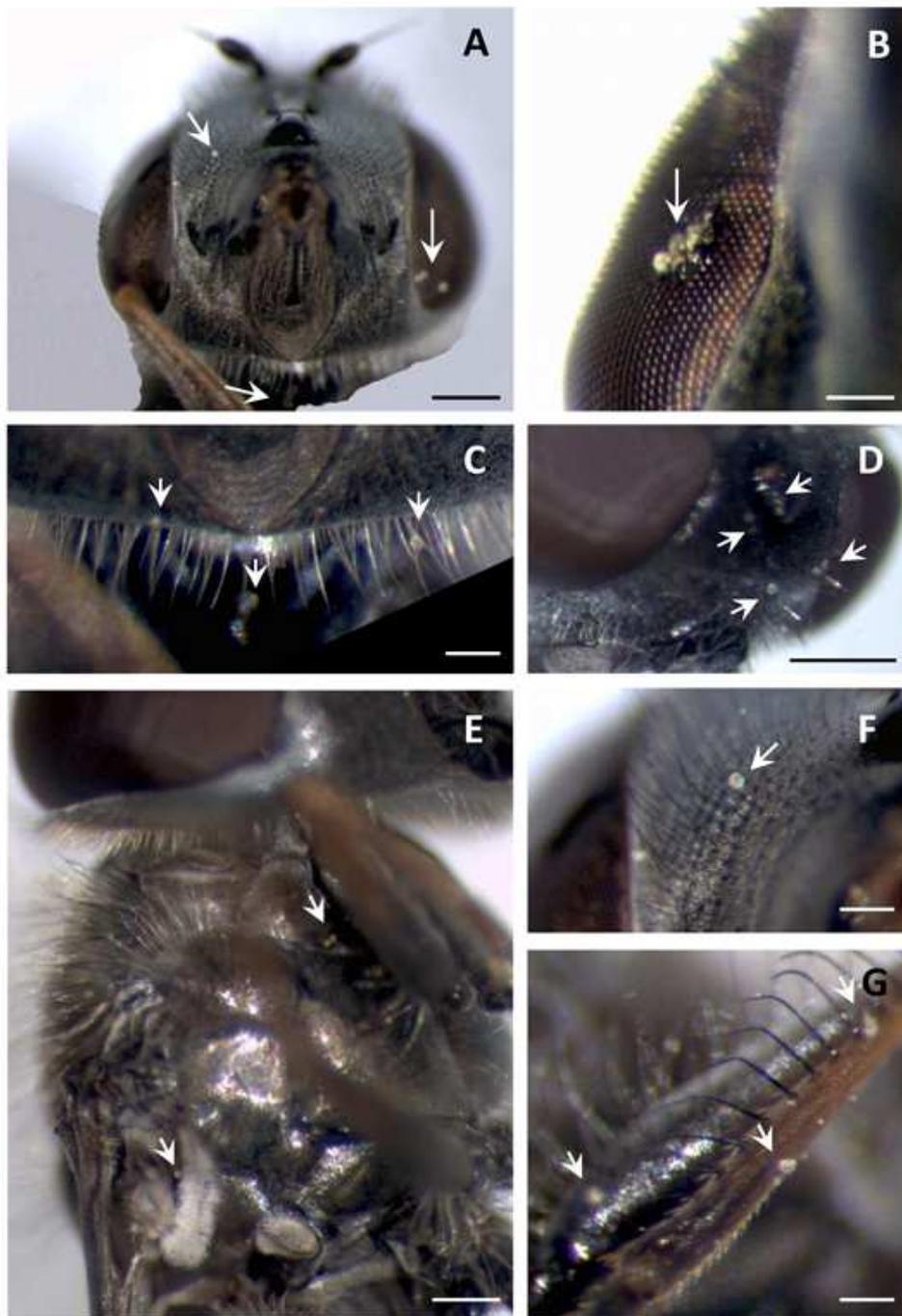


Figura 10: Polen sobre *Platycheirus* sp. vistos bajo microscopio estereoscópico. A-D, F, polen visto sobre diferentes partes de la cabeza (flechas); E, polen sobre el tórax (flechas); G, polen en una pata (flechas). Las barras representan A-D-E, 1mm; B-C-F-G, 0,5mm.

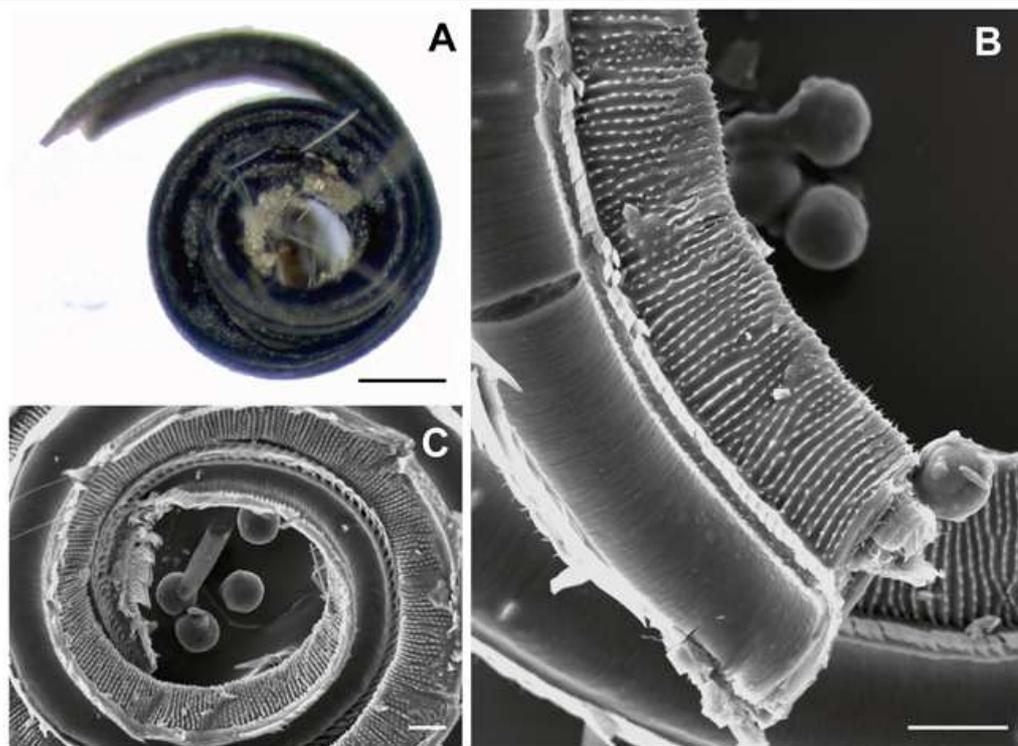


Figura 11: Espiritrompa de *Tatochila sp* con polen. A, vista bajo microscopio estereoscópico; C - B, MEB; C, vista general; B, vista en detalle. Las barras representan A, 500 μ m; C-B, 50 μ m.

Actividad de insectos en cautiverio

Observación de las flores después de 48 hs de terminado el experimento de cautiverio. Una vez finalizado el tratamiento de cautiverio se colectaron las ramas. En principio se observó un deterioro general de las flores que habían estado en contacto con los insectos a diferencia de la rama testigo que no varió su apariencia respecto del momento inicial del experimento (Fig. 12).

Las flores vistas bajo microscopio estereoscópico mostraron que en los tratamientos S1 y S2 había ocurrido un marcado deterioro en los órganos florales (Fig. 12). Se observó marchitamiento de los pétalos y sépalos, además de ennegrecimiento del gineceo (Fig. 12). En particular en el tratamiento S1 se pudo ver un mayor daño en el estigma de los pistilos. En ambos tratamientos (S1 – S2) además se vió que las tecas de las anteras contenían pocos granos de polen.

Por el contrario, las flores del tratamiento testigo no presentaron marchitamiento ni

ennegrecimiento de sus partes, las anteras estaban dehiscentes y con una gran cantidad de granos de polen (Fig. 12)

Los pistilos de los tres tratamientos fueron analizados por Radice y Arena (datos aún no publicados) los cuales fueron tratados para su estudio bajo microscopio y filtro UV. En los estigmas de los tratamientos S1 y S2 se observó presencia de numerosos granos de polen y en parte en fase de germinación, mientras que en los pistilos del tratamiento testigo no se encontraron granos de polen.

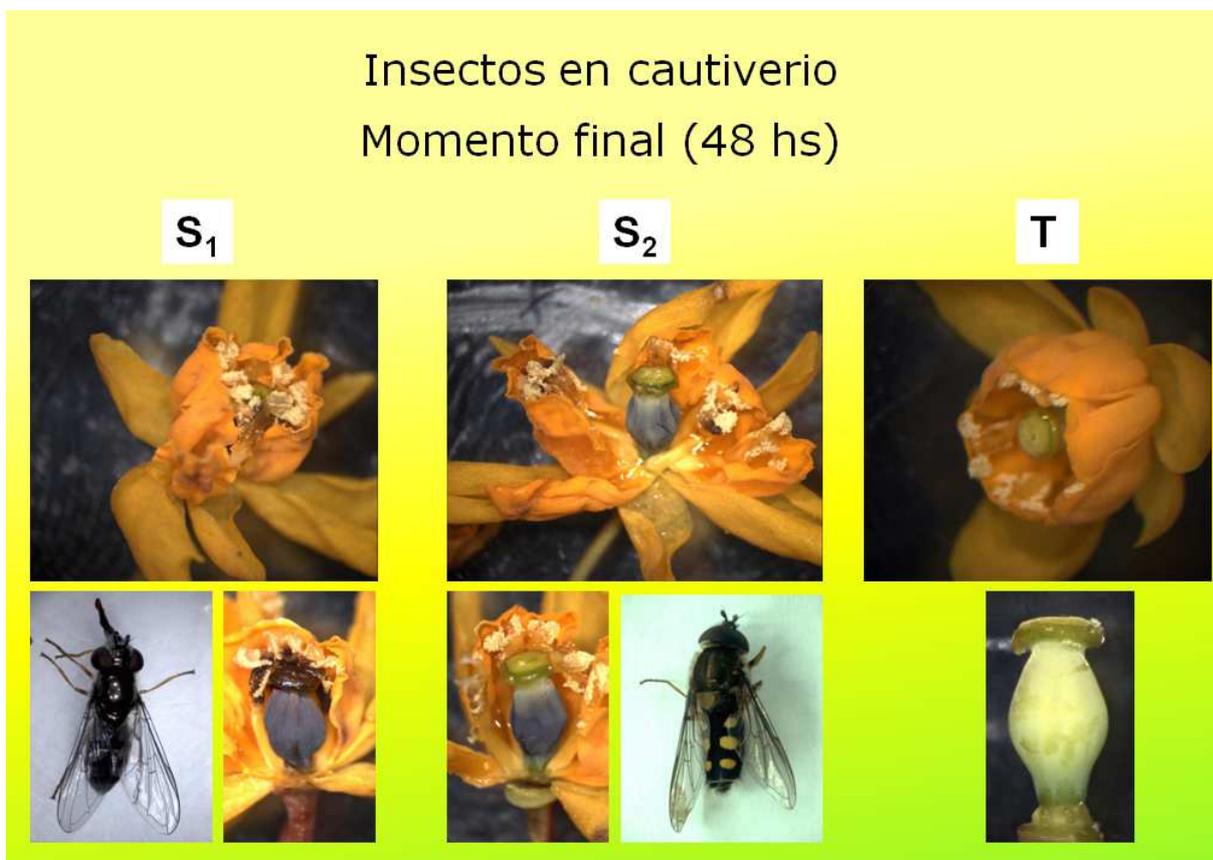


Figura 12: Flores de *B. microphylla* vistas bajo microscopio estereoscópico luego de 48 hs de cautiverio. **S1**, flores visitadas por *Platicheirus* sp.; **S2**, flores visitadas por *Allograpta* sp.; **T**, flor del tratamiento testigo.

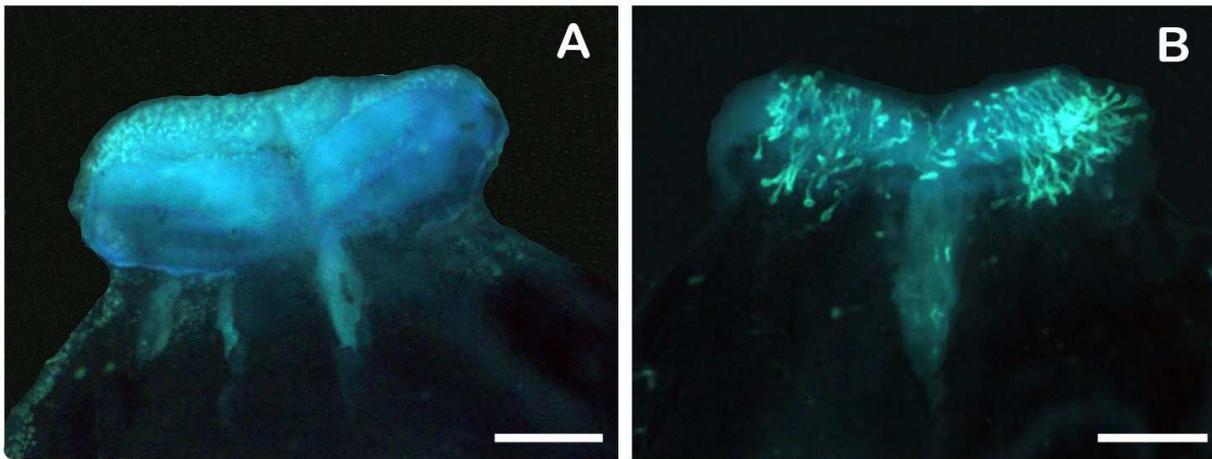


Figura 13: Pistilos de *B. microphylla* colectados del experimento de cautiverio y vistos bajo microscopio y filtro UV. A, Estigma libre de granos de polen de pistilo tomado del tratamiento testigo; B, Estigma con numerosos granos de polen y germinados tomados del tratamiento S1.

DISCUSIÓN

En *B. microphylla* se observó una gran oferta floral. En efecto esto había sido ya observado en años anteriores en donde se calculó 0,9 flores/cm lineal (Arena y Radice datos no publicados).

En la literatura se cita la presencia de himenópteros y coleópteros como visitantes de diversas especies de *Berberis*, en Tierra del Fuego, dadas las condiciones climáticas, no existen poblaciones de abejas. Una de las razones posibles es que los himenópteros para volar, deben elevar su temperatura torácica a 36 - 45 °C (Heinrich, 1975), temperatura imposible de lograr durante el período de floración de *Berberis* en Tierra del Fuego. En este caso, toman un rol de importancia los dípteros de la familia *Syrphidae* que según Heinrich (1975) logran iniciar el vuelo elevando la temperatura torácica a 26 - 32°C. De esta familia han sido descritos unos 200 géneros y alrededor de 5.400 especies. Los adultos de las subfamilias *Syrphinae* y *Eristalinae* se encuentran asociados principalmente a plantas con flores y los componentes de su dieta son néctar y polen (Vockeroth y Thompson, 1987) con lo cual resultan ser importantes agentes de polinización zoófila. El aspecto de los adultos es mimético al de ciertas abejas y avispas (Arnet, 2000). En estudios realizados en *B. empetrifolia* Lam. también se encontró que la polinización era realizada por dípteros (Arroyo *et al.*, 1983).

Las piezas bucales y los mecanismos de alimentación de los sírfidos han sido objeto de diversos estudios debido a su importancia como agentes polinizadores (Müller 1883)

Las estructuras bucales de los sírfidos adultos están especializadas en la succión de fluidos por ello el néctar es un alimento fácil de ingerir y de digerir, ya que se metaboliza rápidamente y aporta la energía necesaria para la actividad muscular y en particular para el vuelo. Tienen alguna dificultad con los alimentos en estado sólido dado que para ingerirlos deben disolverlos previamente con la saliva. Sin embargo, los granos de polen no se disuelven y es aquí donde el tamaño del polen consumido es un factor limitante,

debido a las dimensiones de las ranuras inter-pseudotraqueales por las cuales el alimento se introduce al tubo digestivo (Rotheray y Gilbert 2011). Una particularidad observada en sírfidos adultos de *Eristalis tenax* fue que no ingieren directamente el polen de las anteras, sino que se impregnan de él mientras manipulan las flores en busca de néctar para consumirlo después del aseo corporal (Pérez *et al.*, 2000). El polen es una fuente de proteína para el macho en la espermatogénesis y para la hembra en la formación de los huevos (Goulson and Wright, 1998).

Si bien las flores son muy visitadas por los sírfidos *Allograpta sp.* y en mayor medida por *Platycheirus sp.* la observación bajo microscopio estereoscópico de los ejemplares capturados no mostró una carga polínica importante como para justificar su eficiencia polinizadora. Estos resultados son coincidentes con los observados por Zamora (2010) que trabajando con *Salvia bogotensis* observó que los sírfidos no fueron eficientes portadores de polen. Según Holloway (1976) la subfamilia *Syrphinae* se caracteriza por varias particularidades. En principio por tener aparatos bucales cortos por lo cual tiene restricciones en la toma de los recursos florales y sólo pueden tomar la recompensa de plantas que la tienen expuesta en la superficie floral como ocurre en algunas especies de las familias *Apiaceae*, *Compositae*, *Verbenaceae*. Otra característica es la de presentar baja pilosidad por lo cual poseen una menor eficiencia en la carga de polen en comparación a la familia *Eristalinae* y por último tienen hábitos de limpieza muy frecuentes que consisten en la recolección de los pocos granos de polen que se adhieren a su cuerpo, en las patas anteriores y posterior para luego consumirlos (Holloway, 1976). Esto compensaría su recompensa debido a sus limitaciones en la toma de los recursos florales. Por otro lado, los *Lepidoptera* son el orden de insectos que, en general, está más estrechamente asociado a las plantas con flores, buenos polinizadores (Ollerton 1999) que dependen de las flores como fuente de alimento. La observación bajo microscopio estereoscópico de los ejemplares capturados mostró la presencia de numerosos granos

de polen en la espiritrompa de *Tatochila* sp. Pero la escasa abundancia de mariposas y la baja frecuencia de visitas debido a las limitantes climáticas, se considera de poca importancia como polinizadoras de *B. microphylla* en Tierra del Fuego.

La actividad de los insectos está estrechamente relacionada a las condiciones climáticas (Torres Dias *et al.*, 2007). Aunque los sírfidos son insectos de vuelo fuerte y ágil, no les favorece el clima frío, húmedo, o con viento (Lewis 1965). Según Cederström (2014), las especies del género *Platycheirus* son muy resistentes a los climas fríos e inician su actividad con temperaturas de alrededor de 10 °C. Los sírfidos regulan su temperatura torácica mediante el movimiento de sus alas y ubicándose en sentido directo a los rayos solares. Este comportamiento fue muy frecuente para *Platycheirus* mientras visitaba las flores de calafate. Durante el vuelo estacionario y en momentos de sol pleno los sírfidos pueden aumentar la temperatura torácica 12-14 °C por encima de la temperatura ambiente (Heinrich, and Pantle, 1975). En efecto en el período de estudio se observó una marcada correlación entre la actividad de los insectos y las condiciones climatológicas. Las temperaturas menores a 7,7 °C disminuyeron drásticamente la actividad de los insectos. Por el contrario, a medida que aumentó la temperatura aumentó también el trabajo de pecoreo de los sírfidos, interrumpiéndose solamente para las tareas de aseo corporal, es decir para limpiar sus alas, patas y otras partes del cuerpo en las cuales se había adherido polen. Todas estas observaciones explicarían la alta correlación positiva encontrada entre la temperatura y la actividad de los insectos.

El viento es otro factor climático que también afectó la actividad de los insectos. Con brisas suaves menores a 25,7 Km/h, los sírfidos no tuvieron problemas para buscar las flores de calafate en fase de antesis para el pecoreo, mediante su vuelo estacionario. Por el contrario, vientos de velocidad superior a 25,7 Km/h imposibilitaron la actividad normal de los sírfidos.

Tal como se cita para otras especies de insectos, en condiciones de mayor iluminación

aumenta la frecuencia de visita y de esta manera aumenta la probabilidad de la polinización (Kilkenny y Galloway 2008). El nivel de luz afecta directamente el éxito reproductivo de las plantas a través de la disponibilidad de recursos o mediante la alteración de la conducta de los polinizadores de las plantas. También puede influir de manera indirecta, modificando el tamaño de las flores que a su vez influyen en la atracción de los polinizadores. Si bien no se obtuvieron registros del nivel de luz o irradiancia solar, durante el período de estudio la mayoría de los días fueron nublados, por lo tanto este factor también afectó la actividad de los polinizadores estudiados.

Por último, la observación de la actividad de los sírfidos en cautiverio permitió comprender mejor aún su desempeño en la polinización de las flores de *B. microphylla*. En los tratamientos de cautiverio se observó marchitamiento de los pétalos y sépalos, además de ennegrecimiento del gineceo. La manipulación de las piezas florales por parte de los sírfidos en búsqueda de néctar, podría explicar el deterioro de las mismas que en esta situación limitada de oferta floral se intensifica. El ennegrecimiento del pericarpio puede ser debido a la actividad de enzimas como peroxidasa y polifenol oxidasa (Zauber *et al.*, 1991), que catalizan la oxidación de fenoles a quinonas, las cuales se polimerizan para formar pigmentos cafés (Mayer y Harel, 1979). Como resultado de este proceso ocurre una gran deshidratación del tejido causante del marchitamiento de las flores.

CONCLUSIONES

1. *Berberis microphylla* en su período de floración ofrece flores en abundancia. El color, la producción de néctar y los numerosos granos de polen que poseen estas flores son un atractivo interesante para los insectos visitantes.
2. Los insectos visitantes de las flores de *B. microphylla* fueron tres, de los cuales, dos se identificaron como dípteros de la familia *Syrphidae*, en particular, de los géneros *Allograpta* y *Platycheirus*, y un lepidóptero del género *Tatochila*.
3. *B. microphylla* es una especie que posee síndrome de entomofilia. Solo los sírfidos visitan de forma frecuente las flores como para poder ser considerados polinizadores de las mismas.
4. Las adecuadas condiciones climatológicas son fundamentales para que los insectos puedan realizar la actividad de pecoreo y contribuir de esta manera con la polinización de las flores. Las temperaturas menores a 7,7 °C o los vientos por encima de 25,7 Km/h impidieron la actividad normal de los insectos.
5. Los insectos, en especial los sírfidos, pudieron tomar sin dificultades el néctar de las flores de *B. microphylla*. Durante esta actividad se activaron los filamentos estaminales liberando parte de los granos de polen de las tecas los cuales se adhirieron al cuerpo del insecto.

Bibliografía:

- Angulo, D. F., Sosa, V., & García-Franco, J. G. (2014). Movimientos florales: Desplazamiento de los estambres en *Berberis trifoliolata*. *Botanical Sciences*, 92(1), 141-144. Arena M E, Martínez Pastur G, Vater G. 2000. *In vitro* propagation of *Berberis buxifolia* Lam. *Biocell* 24 (1): 73-80.
- Arena M E, Vater G, Peri P. 1998. Propagación por rizomas de *Berberis* de la Patagonia Austral. IX Congreso Latinoamericano de Horticultura. XLIX Congreso Agronómico de Chile. 30 de Noviembre al 3 de Diciembre de 1998. Santiago, Chile.
- Arena M., Giordani E. and Radice S. (2013). Phenological growth and development stages of the native Patagonian fruit species *Berberis buxifolia* Lam. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. Vol. 11 (3-4): 1323-1327.
- Arena M., Glordani E, Radice S. (2012). Flowering, fruiting and leaf and seed variability in *Berberis buxifolia*, a native Patagonian fruit species. En: *Native Species: Identification, Conservation and Restoration*. Nova Sciences Publishers. Pág 117-136. ISBN: 978-1-61470-613-7. 176 pág.
- Arena, M., Martínez Pastur, G. (1994). Seed propagation of *Berberis buxifolia* Lam. *Phyton* 56(XII): 59-63.
- Arena, M., Vater, G., Peri P. (2003). Fruit production of *Berberis buxifolia* Lam in Tierra del Fuego. *HortSci* 38(2): 200-202.
- Arena M. and Radice S. (2014). Shoot growth and development of *Berberis buxifolia* Lam. in Tierra del Fuego (Patagonia). *Scientia Horticulturae*: 5-12.
- Arroyo, M. T. K., Armesto, J. J., and Primack, R. (1983). Tendencias altitudinales y latitudinales en mecanismos de polinización en la zona andina de los Andes templados de Sudamérica. *Rev. Chilena Historia Natural*, 56, 159-180.
- Arnett, R. H. Jr. (2000). Segunda edición. *American insects*. CRC Press, Boca Raton, Londres, New York, Washington, D. C.
- Bottini, M. C. J. (2000). Estudios multidisciplinarios en las especies patagónicas argentinas del genero *Berberis* L.(Berberidaceae). Diss. Thesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- Cederström, P., Bygebjerg, R., Nilsson, C. H., Ahlgren, J., and Gillerfors, G. (2014). Fotblomflugor *Platycheirus* (Diptera, Syrphidae) längs den svenska fjällkedjan: en flerårig inventering. *Entomologisk Tidskrift*, 135, 109-130.
- Fajardo Morales, V. (1987). Estudio químico de las especies chilenas del género *Berberis*. *Rev. Lat Quím*: 18: 46-50.
- Goulson, D., and Wright, N. P. (1998). Flower constancy in the hoverflies *Episyrphus balteatus* (Degeer) and *Syrphus ribesii* (L.)(Syrphidae). *Behavioral Ecology*, 9(3), 213-219.
- Hegi, G., 1958: *Illustrierte Flora von Mittel-Europa*.- Band IV, 1. Teil. Carl Hanser Verlag, pp. 70, München.
- Heinrich B (1975) Thermoregulation in bumblebees. II Energetics of warmup and free flight. *Journal of Comparative_ Physiology* 96: 155-166.

- Heinrich, B., and Pantle, C. (1975). Thermoregulation in small flies (*Syrphus* sp.): basking and shivering. *The Journal of Experimental Biology*, 62(3), 599-610.
- Holloway, B. (1976). Pollen-feeding in hover-flies (Diptera: Syrphidae). *New Zealand Journal of Zoology*. 3: 339-350.
- Kilkenny KL, Galloway LF. (2008). Reproductive success in varying light environments: direct and indirect Vectors of light on plants and pollinators. *Oecologia*, 155:247–255.
- Landrum, LR. (1999). Revision of *Berberis* (Berberidaceae) in Chile and adjacent Southern Argentina. *Ann Missouri Bot Gard* 86 (4): 793-834. Lang, A. 1983: Turgor- related translocation. *Plant Cell Envir* 6: 683-689.
- Lewis, T. (1965). Los efectos de una barrera contra el viento artificial en la distribución aérea de insectos voladores. *Anales de Biología Aplicada* 55: 503-512.
- Moore, D.M., (1983). *Flora of Tierra del Fuego*. Anthony Nelson and Missouri Botanical Garden, Oswestry, England.
- Nyéki, J. and Soltész, M. 1996. *Floral Biology of Temperate Zone Fruit Trees and Small Fruits*. Akadémic Kiadó és Nyomda, Budapest, Hungary. 380p.
- Núñez, R. L., Araya, J. E., and Sazo, L. (2012). Colectas de Syrphidae (Diptera) en alfalfa en Colina, Región Metropolitana, Chile, y clave de identificación de seis especies de "Allograpta". *Boletín de sanidad vegetal. Plagas*, 38(1), 3-16.
- Ollerton, J. (1999). La evolución de las relaciones polinizador-planta en los Artrópodos. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (España)*, 26, 741-758.
- Orsi, M.C., (1984). Berberidaceae, in: Correa, M.N. (Ed.), *Flora Patagónica*. INTA, Buenos Aires, pp. 325-348.
- Ren M.X. 2010. Stamen movements in hermaphroditic flowers: diversity and adaptive significance. *Chinese Journal of Plant Ecology* 34:867-875.
- Romeo, R. A., Sánchez, A. C., & Novara, L. (2005). Berberidaceae. *Aportes Botánicos de Salta-Serie Flora*, 7(9), 1-10.
- Tacón Clavain A. 2004. *Manual de productos forestales no madereros*. Valdivia.CIPMA.
- Torres Díaz, C., Cavieres, L. A., Muñoz Ramírez, C., and Arroyo, K. (2007). Consecuencias de las variaciones microclimáticas sobre la visita de insectos polinizadores en dos especies de *Chaetanthera* (Asteraceae) en los Andes de Chile central. *Revista chilena de historia natural*, 80(4), 455-468.
- Urquieta, C. A. P. 2010. Evaluación de la viabilidad polínica de cuatro especies pertenecientes al género *Berberis* L.(*Berberidaceae*). Tesis de grado para la carrera de Agronomía de la Facultad Austral de Chile. 75pp.
- Vockeroth, J. R., and Thompson, F. C. (1987). Syrphidae. *Manual of Nearctic Diptera*, 2, 713-743.
- Zamora Carrillo, M. M. (2010). Estudio de las visitas de las moscas de las flores (Diptera: Syrphidae) a *Salvia Bogotensis* (Lamiales: Lamiaceae) en el jardín botánico "José Celestino Mutis"(Bogotá, DC) (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia). 105pp.