



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Requerimientos y valor económico del servicio de polinización prestado por abejas en dos frutales promisorios colombianos, (Champa *Campomanesia lineatifolia* Ruiz & Pav. y Cholupa *Passiflora maliformis* L.).

Ángela Teresa Rodríguez Calderón

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Biología
Bogotá D.C., Colombia

2014

**Requerimientos y valor económico del
servicio de polinización prestado por
abejas en dos frutales promisorios
colombianos,
(Champa *Campomanesia lineatifolia*
Ruiz & Pav. y Cholupa *Passiflora
maliformis* L.).**

Ángela Teresa Rodríguez Calderón

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencias - Biología

Directora:

(Mc) Guiomar Nates Parra

Laboratorio de Investigaciones en Abejas de la Universidad Nacional de Colombia

(LABUN)

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Departamento de Biología

Bogotá D.C., Colombia

2014

A mi familia

Agradecimientos

Al Departamento Administrativo de Ciencia Tecnología e Innovación COLCIENCIAS y a la Universidad Nacional de Colombia por la financiación del proyecto “*Valoración de los servicios de polinización por abejas en algunos cultivos frutales promisorios en Colombia*” código QUIPU: 2020100-16286. Al Jardín Botánico José Celestino Mutis por el otorgamiento del “*Estímulo a la Investigación Thomas van der Hammen*” como apoyo al desarrollo de la última fase de este trabajo.

A mi Directora, Guiomar Nates Parra, por enseñarme el mundo de estas joyas aladas y por todas las lecciones de vida que me ha dado. A Rodolfo Ospina y Víctor Solarte, por el desarrollo inicial de la idea del proyecto que enmarca esta tesis. Al profesor Xavier Marquinez por permitir el uso del microscopio epifluorescencia. A Danny Vélez por la determinación de abejas del género *Centris*.

A la familia Balaguera López, Florentino Esquivel, Nury Guerrero, Luz Obando, Jorge Cubides, Inés López, Lucila López, Irene Camacho, Héctor Maldonado, Virginia Rivera en Miraflores Boyacá, y en Rivera Huila a Lina Santofimio, Ramiro Perdomo, Antonio Gasca, Carlos Tovar, Jaime Castillo, Ricardo Rojas, Ricardo Montealegre y Arturo Pascua.

A los integrantes del Laboratorio de Investigaciones en Abejas LABUN, Laura Victoria Calderón Acero y María Mónica Henao Cárdenas por su disciplina y esmero en la realización de sus trabajos de grado, indispensables para el desarrollo de esta investigación, a Susana Currea, por su paciente y oportuna ayuda en laboratorio, a Simón Pinilla, Rodolfo Ospina, Joanna Jaramillo, Jorge Díaz, Carlos Villalba, Angie Amezcuita, Carolina Gómez, Sara Cancino y Alexandra Barón, por su apoyo en campo. Y de manera muy especial a Fermín José Chamorro García por el apoyo logístico, profesional y emocional durante todas las fases del proyecto.

A mi madre y mi hermano, por soportar mis ausencias y apoyarme siempre. A mi padre por su ejemplo, a mi esposo Scott Bridges por su invaluable ayuda en campo, laboratorio y hogar, y a mi hijo Maximilian por convertirse en la más maravillosa motivación para terminar este trabajo.

Resumen

El presente estudio se realizó con el fin de conocer la biología de la polinización de dos especies frutales promisorias y expresar los resultados en términos monetarios para facilitar la comunicación entre diferentes actores de los sectores productivo y académico, en el marco de la Iniciativa Colombiana de Polinizadores.

Se estudió la biología floral y reproductiva de la chamba, *Campomanesia lineatifolia* (en Boyacá) y la cholupa, *Passiflora maliformis* (en el Huila). Se identificaron los visitantes con mayor potencial de polinización por medio de observaciones de frecuencia de visitas, comportamiento en las flores, análisis de polen de contacto y ensayos de visitas controladas. Finalmente se realizó la estimación del valor económico de la polinización realizada por abejas en estos frutales, con base en los costos de producción y precio de la fruta en el mercado.

Con el análisis conjunto de los datos de este trabajo y dos trabajos de grado complementarios se encontró que el servicio de polinización prestado por las abejas a *C. lineatifolia* y a *P. maliformis* es esencial. Para la chamba, este servicio tiene un valor del 33% de la producción, equivalente al de las ganancias obtenidas de su comercialización por los productores, ya que los frutos se forman únicamente en condiciones de exposición a los visitantes florales, de los cuales *Apis mellifera* y *Melipona* spp. son las más importantes como polinizadoras. En tanto que para la cholupa se encontró que el servicio prestado por las abejas polinizadoras, principalmente *Apis mellifera*, *Eulaema cingulata*, *Xylocopa frontalis*, *Eulaema nigrita* y *Centris flavifrons*, puede variar entre el 25 y el 28% del total de la producción, aproximadamente el valor de la ganancia que un productor obtiene de la venta de su cosecha.

Palabras clave: Biología floral, Biología reproductiva, Chamba, Cholupa, *Campomanesia*, *Passiflora*, Valoración de polinización.

Abstract

This study was conducted to understand the pollination biology of two promising fruit species and express the results in monetary terms in order to facilitate communication between the productive and academic sectors within the context of the Colombian Pollinators Initiative.

The floral and reproductive biology of chamba, *Campomanesia lineatifolia* (in Boyaca) and cholupa, *Passiflora maliformis* (in Huila), was studied. The visitors with the greater potential for pollination were identified by observing the frequency of visits, behaviour on flowers, pollen analysis and controlled visits. Finally, we estimated the economic value of pollination by bees for these fruits, based on production costs and the price of fruit in the market.

With the joint analysis of the data from this work and two additional degree works we found that pollination services provided by bees to *C.lineatifolia* and *P.maliformis* are essential.

For chamba, this service has a value of 33% of production, equivalent to the profit earned by the producers, since the fruits are formed only under conditions of exposure to floral visitors of which *Apis mellifera* and *Melipona* spp. are the most important as pollinators.

For cholupa we found that the service provided by pollinating bees, mainly *Apis mellifera*, *Eulaema cingulata*, *Xylocopa frontalis*, *Eulaema nigrita* and *Centris flavifrons*, can vary between 25 and 28% of total production, which is the approximate profit that a producer earns from the sale of their crop.

Keywords: floral biology, reproductive biology, Chamba, Cholupa, *Campomanesia*, *Passiflora*, pollination valuation.

Contenido

	Pág.
Lista de figuras.....	1
Lista de tablas	2
Introducción	1
1.1 Dependencia de la polinización por abejas por parte de la champa (<i>Campomanesia lineatifolia</i> Ruiz & Pav.).....	5
1.1 Materiales y Métodos.....	7
1.1.1 Área de estudio.....	7
1.1.2 Biología floral	9
1.1.3 Biología reproductiva.....	12
1.1.4 Polinizadores	15
1.1.5 Dependencia de polinizadores	16
1.1.6 Análisis de datos	16
1.2 Resultados.....	17
1.2.1 Biología floral	17
1.2.2 Biología reproductiva.....	24
1.2.3 Polinizadores	27
1.2.4 Dependencia de polinizadores	31
1.3 Discusión	32
1.3.1 Biología floral	32
1.3.2 Biología reproductiva.....	33
1.3.3 Polinizadores	36
1.3.4 Dependencia de polinizadores	37
1.4 Conclusiones	38
1.5 Referencias	39
2. Dependencia de la polinización por abejas por parte de la cholupa (<i>Passiflora maliformis</i> L.).....	47
2.1 Materiales y métodos.....	49
2.1.1 Área de estudio	49
2.1.2 Biología reproductiva.....	50
2.1.3 Polinizadores.....	52
2.1.4 Dependencia de polinizadores	55
2.1.5 Análisis de datos	56
2.2 Resultados.....	57

2.2.1	Biología reproductiva	57
2.2.2	Polinizadores	60
2.2.3	Dependencia de polinizadores.....	73
2.3	Discusión.....	74
2.3.1	Biología reproductiva	74
2.3.2	Polinizadores	75
2.4	Conclusiones.....	78
2.5	Referencias	80
3.	Valor económico del servicio de polinización prestado por abejas en dos cultivos promisorios colombianos, estudios de caso de la champa y la cholupa....	87
3.1	Introducción.....	87
3.1.1	La polinización como servicio ecosistémico	87
3.1.2	Abejas y polinización de cultivos.....	88
3.1.3	Valoración económica del servicio de polinización.....	89
3.2	Materiales y métodos	91
3.3	Resultados	92
3.3.1	Valor de la polinización por abejas para la chamba <i>C. lineatifolia</i>	92
3.3.2	Valor de la polinización por abejas para la cholupa <i>P. maliformis</i>	94
3.4	Discusión.....	95
3.4.1	Valor de la polinización por abejas para la chamba <i>C. lineatifolia</i>	95
3.4.2	Valor de la polinización por abejas para la cholupa <i>P. maliformis</i>	96
3.4.3	Consideraciones generales.....	96
3.5	Conclusiones.....	97
3.6	Referencias	97
4.	Recomendaciones.....	101
A.	ANEXO: Formulario de encuesta para el registro de datos para la valoración económica de la polinización de chamba y cholupa.....	103
B.	ANEXO: Síntesis de información referente a producción y costos de producción, obtenida a partir de las entrevistas a los productores de Chamba.....	104
C.	ANEXO: Síntesis de información referente a producción y costos de producción, obtenida a partir de las entrevistas a los productores de Cholupa. ...	105

Lista de figuras

Capítulo 1

Figura 1-1 Contexto geográfico de los puntos de muestreo en champa	8
Figura 1-2 Esquema de la flor de <i>C. lineatifolia</i> donde se muestran las variables medidas en las distintas etapas florales.....	10
Figura 1-3 Hora de apertura de las flores de <i>C. lineatifolia</i>	18
Figura 1-4 Cambios durante la vida floral de <i>C. lineatifolia</i>	19
Figura 1-5 Estigma de <i>C. lineatifolia</i> con tubos polínicos observados en microscopio de fluorescencia.	20
Figura 1-6 Número de tubos polínicos contados en la región media del estilo.....	21
Figura 1-7 Vistas de la prueba de germinación de granos de polen de <i>C. lineatifolia</i> . Los granos de polen se ven teñidos por el azul de metileno y los filamentos que salen de ellos corresponden a los tubos polínicos que evidencian la viabilidad.	22
Figura 1-8 Promedio de tubos polínicos según el tratamiento de polinización y la región del estilo.....	25
Figura 1-9 Número de frutos formados en botones expuestos vs botones excluidos.....	28

Capítulo 2

Figura 2-1 Contexto geográfico de los puntos de muestreo para la cholupa.....	50
Figura 2-2 Curvas de acumulación de especies por predio	61
Figura 2-3 Curva de acumulación de especies general	61
Figura 2-4 Comportamiento de forrajeo de los diferentes grupos de abejas nativas en cholupa. A. Centridini; B. Euglossini C. Otros Apidae D. Meliponini E. Temperatura y Humedad relativa promedio.....	63
Figura 2-5 Comportamiento de forrajeo de <i>A. mellifera</i> a lo largo del día.	64
Figura 2-6 Estado de apertura y estado de remoción del polen de las anteras de cholupa a lo largo del día.....	65

Lista de tablas

Capítulo 1

Tabla 1-1 Resultados de la correlación de Spearman entre las medidas florales y las variables climáticas	19
Tabla 1-2 Descripción de las etapas florales de <i>C. lineatifolia</i>	23
Tabla 1-3 Resumen de resultados de retención de frutos para los tratamientos de biología reproductiva y para ensayos de visitas de abejas	25
Tabla 1-4 Características de los frutos y semillas obtenidos para cada tratamiento de biología reproductiva y para ensayos de visitas de abejas.	26
Tabla 1-5 Resultados de formación de tubos polínicos a partir de visitas únicas.	29
Tabla 1-6 Resultados de la prueba de comparaciones pareadas Mann-Whitney entre tipo de visitante.....	29
Tabla 1-7 Resultados de la formación de frutos por visitas únicas	30
Tabla 1-8 Resultado de los frutos formados a partir de visitas múltiples	31
Tabla 1-9 Comparación entre resultados obtenidos de las visitas múltiples según el número y tipo de visitantes.....	31

Capítulo 2

Tabla 2-1 Puntos de estudio de la polinización de <i>P. maliformis</i>	49
Tabla 2-2 Comparación entre tratamientos de biología reproductiva y ensayos de visitas por comparaciones múltiples entre pares de tratamientos por medio del test exacto de Fisher.....	58
Tabla 2-3 Comparación de los resultados obtenidos para las características de frutos resultantes de los tratamientos de polinización y ensayos de visitas.....	59
Tabla 2-4 Porcentaje de aparición de las diferentes especies de abejas visitantes de <i>P. maliformis</i>	60
Tabla 2-5 Correlación de Spearman entre el número de visitas y las variables Temperatura y Humedad relativa.	64
Tabla 2-6 Índices de diversidad y dominancia calculados para los diferentes predios de estudio.	66
Tabla 2-7 Promedios del número de granos en muestras de polen de contacto de las diferentes partes corporales de los visitantes de <i>P. maliformis</i>	67
Tabla 2-8 Resumen con el promedio de la cantidad de polen transportado en el cuerpo por los visitantes florales de la cholupa. Promedios que no comparten una letra son significativamente diferentes.	68
Tabla 2-9 Formación de frutos de cholupa a partir de visitas únicas	70
Tabla 2-10 Formación de frutos de cholupa a partir de visitas múltiples de <i>A. mellifera</i> ..	70
Tabla 2-11 Formación de frutos de cholupa a partir de visitas de <i>A. mellifera</i> por diferentes recursos	71
Tabla 2-12 Asignación de puntaje según el tamaño corporal de las abejas	71
Tabla 2-13 Guía de asignación de valores por la sincronización con la flor.....	72
Tabla 2-14 Importancia en polinización (PII) para las principales abejas visitantes de la cholupa	73

Introducción

Durante las últimas décadas los efectos de las actividades antrópicas sobre los polinizadores han sido objeto de mucha atención e investigaciones; la crisis ambiental a nivel mundial ha llevado a una crisis de polinizadores a causa de pérdida de hábitat, introducción de especies exóticas, uso de plaguicidas y el desorden del colapso de colonias (Ashworth *et al.* 2009, VanEngelsdorp *et al.* 2009, Potts *et al.* 2010).

Para hacer frente a esta crisis han surgido iniciativas para la conservación y protección de los polinizadores a nivel mundial, continental y a nivel de países (Dias *et al.* 1999, Imperatriz Fonseca *et al.* 2004). Colombia, que no es ajena a esta problemática, necesita tener metodologías adecuadas y datos tangibles de sus especies nativas, tanto de plantas como de abejas, para emprender acciones concretas desde varios frentes, el académico, el sector productivo y los tomadores de decisiones.

El Laboratorio de Investigaciones en Abejas de la Universidad Nacional LABUN, ha iniciado la tarea de impulsar la Iniciativa Colombiana de Polinizadores – capítulo abejas- (ICPA) con el fin de promover la conservación de estos importantes polinizadores. En el 2010 se realizó el Primer Taller para la formulación plan de acción de la ICPA en el cual se definieron tres líneas de trabajo:

- 1) Línea de conocimiento, conservación y restauración de la función de polinización
- 2) Línea de uso y manejo de polinizadores
- 3) Línea de valoración del servicio de polinización. En esta última línea se enmarca el presente trabajo, con el cual el grupo de investigación LABUN pretende realizar acciones concretas para generar de Información de utilidad dirigida principalmente al sector productivo, implementar la valoración como herramienta de sensibilización que promueva entre los actores involucrados con cultivos

emergentes, la adopción de buenas prácticas agrícolas que les permitan beneficiarse sustentablemente del servicio de la polinización.

Las especies que se estudiaron son especies de especial interés porque reúnen condiciones que las clasifican como promisorias (Ministerio del Medio Ambiente 2002), es decir, son especies nativas, actualmente usadas en forma incipiente, pero con unas grandes potencialidades en diferentes campos como la ecología, la conservación del medio ambiente o que pueden representar un potencial económico a corto, mediano o largo plazo para la región donde se encuentran, además de ser potencialmente susceptibles de un aprovechamiento ambientalmente sostenible.

La Champa *Campomanesia lineatifolia* y la Cholupa *Passiflora maliformis* son frutales promisorios cultivados en Miraflores (Boyacá) y Rivera (Huila) respectivamente, no se tiene información sobre biología floral y reproductiva de estas especies, ni de sus visitantes y posibles polinizadores.

La secuencia metodológica de este estudio consistió en tres etapas principales: en primer lugar conocer la información básica de la flor por medio de la descripción de las etapas florales, la observación de los cambios morfológicos y funcionales, y esclarecimiento de la estrategia reproductiva, en las dos especies, para el caso de la cholupa fue esencial el trabajo de grado realizado por Henao (2014), que marcó las directrices para el análisis de la biología de la polinización de *P. maliformis*. En segundo lugar, el estudio de la densidad y diversidad de visitantes florales, observaciones de comportamiento en flores y análisis de polen de contacto, una vez conocidos los polinizadores potenciales fueron actividades con las que se avanzó en el acopio de información de base, para esta sección el trabajo de Calderón-Acero (2012) marcó los lineamientos del estudio de visitantes de *C. lineatifolia*. En una tercera instancia se realizaron ensayos específicos para determinar el aporte de los polinizadores la producción de frutos y a partir de esta información se obtuvo el valor de dependencia de polinizador para las dos especies, que a su vez hace parte de la fórmula para calcular el valor de la polinización con base en el precio de mercado del fruto.

Con este trabajo se pretende contribuir al conocimiento de las interacciones planta – polinizador respondiendo una pregunta principal: ¿En qué medida los frutales, Cholupa *Campomanesia lineatifolia* y Champa *Passiflora maliformis*, dependen de las abejas para su fructificación y cuál es el valor económico de este servicio?, para lo cual se ha

planteado como objetivo general: Evaluar el servicio de polinización que prestan las abejas en dos frutales promisorios de Colombia: Champa (*Campomanesia lineatifolia*) y Cholupa (*Passiflora maliformis*). Y como objetivos específicos:

- Determinar la dependencia de polinización por abejas en los dos frutales.
- Determinar el valor económico del servicio prestado por abejas polinizadoras en cada frutal.

Este documento se presenta en tres capítulos, en los capítulos 1 y 2 se muestran los avances en el conocimiento de la ecología de la polinización de Champa (*Campomanesia lineatifolia*) y Cholupa (*Passiflora maliformis*) respectivamente. En el tercer capítulo se presentan los estudios de caso de aplicación del método de valoración económica del servicio ecosistémico de polinización en los dos frutales, una primer acercamiento sobre este proceso e información útil para articular la conservación de la flora y fauna con el desarrollo de alternativas económicas.

REFERENCIAS

ASHWORTH L., QUESADA M., CASAS A., AGUILAR R, OYAMA K. 2009. Pollinator-dependent food production in Mexico. *Biological Conservation* 142: 1050 – 1057.

CALDERON-ACERO L.V. 2012. Visitantes florales y posibles polinizadores de champa, *Campomanesia lineatifolia* Ruiz & Pav. (Myrtaceae) en cuatro localidades de la provincia de Lengupá, Boyacá. Trabajo de Grado, Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. 53 p.

DIAS B., RAW A., IMPERATRIZ-FONSECA V.L. 1999. International pollinators initiative: the São Paulo declaration on pollinators. Brazilian Ministry of the Environment. Brasília. 79 pp.

HENAO M. 2014. Biología Floral y Reproductiva de la Cholupa. *Passiflora maliformis* (Passifloraceae). [Trabajo de Grado]. Bogotá: Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia; 41 p.

IMPERATRIZ FONSECA V.L., MAGALHÃES FREITAS B., MAURO SARAIVA A., DIAS B. 2004. The Brazilian Pollinators Initiative: challenges and opportunities. *Proceedings of the 8th IBRA International Conference on Tropical Bees and VI Encontro sobre Abelhas* 56-62.

MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE. 2002. Estrategia nacional de transferencia de tecnología ambiental sobre especies promisorias de la fauna y flora silvestres. Bogotá. P. 60.

POTTS S., BIESMEIJER J., KREMEN C., NEUMANN P., SCHWEIGER O., KUNIN W. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers *Trends in Ecology and Evolution* Vol.25 (6): 345-353.

VANENGELSDORP D., EVANS J.D., SAEGERMAN C., MULLIN C., HAUBRUGE E., NGUYEN B.K., FRAZIER M., FRAZIER J., COX-FOSTER D., CHEN Y. 2009. Colony collapse disorder: a descriptive study. *PloS One* 4 (8):64-81.

1.1 Dependencia de la polinización por abejas por parte de la champa (*Campomanesia lineatifolia* Ruiz & Pav.)

La champa o chamba pertenece al género *Campomanesia* de la familia Myrtaceae. Este género está compuesto por 25 especies, todas suramericanas, pero solamente una, la chamba, crece en Colombia (Parra-O. 2014).

Campomanesia lineatifolia es un árbol frutal, que se encuentra en Colombia, Brasil, Ecuador y Perú (Landrum 1986), en Colombia crece en la Amazonia, Andes, Orinoquia y el Pacífico (Villachica 1996), entre los 20 y los 1.850 m de altitud.

La chamba es aprovechada y cultivada principalmente en algunas áreas del departamento de Boyacá como la provincia de Lengupá, en los municipios de Miraflores, San Eduardo y Berbeo (López & Rodríguez 1995, Balaguera-López 2011, Cruz 2014). La parte de la planta que se utiliza es el fruto, que es altamente perecible. El producto procesado se utiliza para elaborar jugos, cremas, helados, yogurt, dulces y licores, además, las semillas se emplean como ingrediente natural en la elaboración de cosméticos (López & Rodríguez 1995, Cruz 2014).

Para *C. lineatifolia* Madalosso *et al.* (2011) confirmaron el uso etnofarmacéutico como agente gastroprotectivo, eficiente en la prevención de úlceras gástricas. La champa tiene alto contenido de vitamina C y minerales como calcio y fósforo en sus frutos según lo reportado por ICBF (1978), además posee compuestos aromáticos del grupo de las β -trictetonas, llamados champanones, que son los que confieren aroma a las partes florales, frutos y semillas, y poseen propiedades antimicrobianas leves (Bonilla *et al.*, 2005; Osorio *et al.* 2006).

Otros estudios sobre aspectos biológicos y agronómicos de *C. lineatifolia* se han enfocado en temas de desarrollo del fruto y manejo postcosecha (Balaguera-López 2011, Balaguera-López & Herrera 2012) y más recientemente aspectos sobre su

aprovechamiento con fines comerciales (Cruz 2014). El estudio de Lughadha & Proença (1996), pese a tratar un taxón superior, la subfamilia Myrtoideae, aporta datos sobre la biología reproductiva del grupo ya que contiene una compilación detallada de los estudios disponibles en su momento e importantes elementos que sirven de guía para estudios particulares como el presente.

Otros referentes sobre biología floral y polinización de *Campomanesia* con los que se cuenta son los estudios realizados en Brasil por Proença & Gibbs (1994) y Torezan-Silingardi & Del-Claro (1998), quienes trabajaron con otra especie del género, *C. pubescens*, estos autores reportaron abejas silvestres de los géneros *Eulaema* y *Bombus* como polinizadores efectivos y además observaron que pese a ser una especie autocompatible, la polinización cruzada aumenta la producción de frutos. Además Torezan-Silingardi & Del-Claro (1998) afirman que en las visitas realizadas por *Apis mellifera*, ésta roba polen y no la beneficia. Almeida (2000) trabajó con *Campomanesia* sp. y comparó la producción de frutos en plantas expuestas a la acción de los polinizadores, (principalmente *Apis mellifera*), y la producción en plantas aisladas de la acción de polinizadores, y encontró que la producción fue mayor en las plantas expuestas. Para *C. pubescens*, Tristão (2009) estudió la biología reproductiva y encontró que posee un sistema sexual alógamo y que *Apis mellifera* es su principal visitante. Cordeiro *et al* (2013) estudiaron la biología reproductiva de *C. phaea* y encontraron que es una especie autoincompatible que requiere vectores polinizadores, además reportan a las abejas como los visitantes más abundantes y frecuentes, destacándose entre éstas las de porte grande como *Bombus*, *Centris*, *Epicharis* y *Ptiloglossa*, las cuales pueden tocar las estructuras reproductivas y así lograr la polinización.

Los antecedentes con enfoque relacionado con polinización, efectuados con *C. lineatifolia*, lo constituyen los trabajos de Calderón-Acero (2012) y Calderón-Acero & Nates-Parra (2013), que contienen el estudio de los visitantes florales de la chamba en la región de Lengupá (Boyacá-Colombia). Los resultados de estos trabajos y los de la presente investigación son complementarios y constituyen en conjunto el primer acercamiento al tema que se ha realizado en el país con esta especie.

El interés por trabajar con frutales nativos, de uso emergente, no muy extendido y con alto potencial de ser aprovechados, surge de la necesidad de abordar estrategias para incorporar prácticas de manejo amigables con las abejas que las polinizan, de esta

manera los modelos de manejo que se implementen ya incluirán el aspecto de la polinización como elemento esencial para optimizar la producción.

La polinización animal es necesaria para el 35 % de los cultivos en el mundo, el 5% no se ha evaluado y el 60 % de los cultivos no dependen de este tipo de polinización, sin embargo el 35 % mencionado inicialmente es el que provee la variedad y calidad de nutrientes más importantes para garantizar la seguridad alimentaria Klein *et al.* (2007), y las abejas son consideradas como los principales polinizadores de los cultivos que requieren polinización por animales (Delaplane & Mayer 2000, Free 1993, Klein *et al.* 2007).

La dependencia de polinizadores según Klein *et al.* (2007) es la medida del nivel de impacto que la polinización realizada por un vector animal, tiene sobre la productividad de determinada especie de planta. La dependencia de polinizadores puede ser Esencial, si la producción se reduce en un porcentaje ≥ 90 %, Grande, con una reducción de 40 a < 90 %, Modesta, si la reducción está entre 10 y < 40 %, Baja, si tiene una reducción entre > 0 a < 10 %, y Nula, si no hay reducción en la producción. El conocimiento de la dependencia de polinización de un cultivo permite dar soporte a estrategias de sensibilización conservación y manejo en el sector productivo.

Dado que no se conocen antecedentes acerca de la dependencia que *C. lineatifolia* tiene de sus polinizadores se planteó como objetivo principal de este trabajo, describir la biología floral y reproductiva de la chamba *Campomanesia lineatifolia* como línea base para de determinar en qué grado esta especie depende de las abejas para la producción de frutos.

1.1 Materiales y Métodos

La fase de campo del presente estudio se llevó a cabo durante las floraciones de 2012, 2013 y 2014 que ocurrieron únicamente entre los meses de marzo y abril de cada año.

1.1.1 Área de estudio

El estudio se realizó en el suroriente del departamento de Boyacá en los municipios de Miraflores y Berbeo.

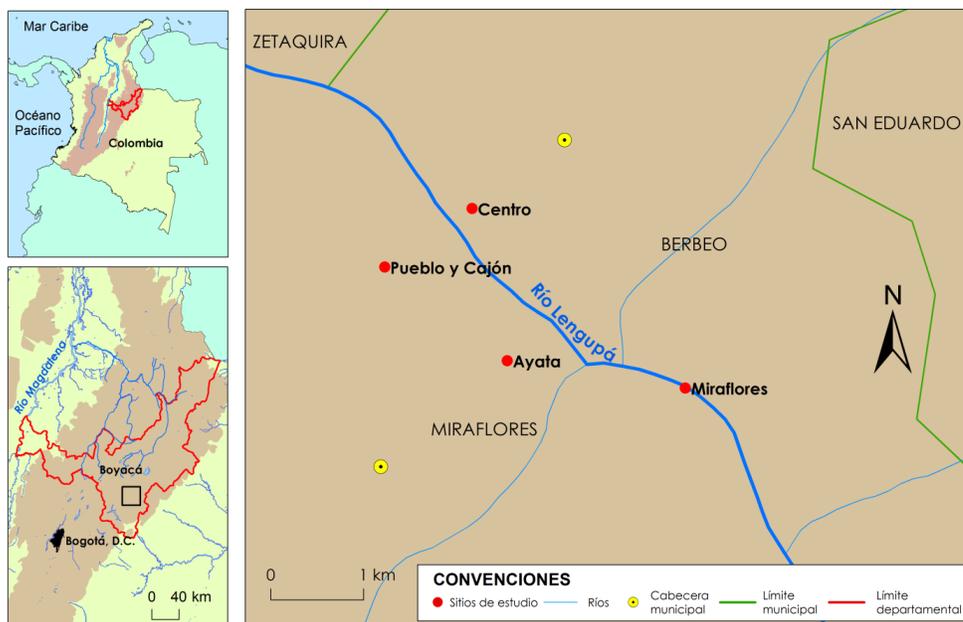
La sección de biología floral y reproductiva se llevó a cabo en un predio en el municipio de Miraflores, vereda Miraflores ubicado en $5^{\circ} 11' 57.087''$ N, $-73^{\circ} 6' 45.201''$ W a 1.014 m de altitud, en una zona donde las principales actividades agrícolas son el cultivo de café con sombrero y la ganadería.

Las observaciones correspondientes a la sección de visitantes florales se realizaron en este predio y en otros tres ubicados en las siguientes coordenadas:

- $5^{\circ} 12' 39.26''$ N, $-73^{\circ} 8' 30.14''$ W) y 1.283 m de altitud, en la vereda Pueblo y Cajón, del municipio de Miraflores.
- $5^{\circ} 12' 6.5844''$ N, $-73^{\circ} 7' 47.3514''$ W, 1303 msnm, en la vereda Ayatá, en Miraflores
- $5^{\circ} 13' 3.7914''$ N, $-73^{\circ} 7' 57.3096''$, 1.123 msnm, en la vereda Centro, del municipio de Berbeo.

La contextualización geográfica y la ubicación de los puntos de muestreo se muestran en la Figura 1-1.

Figura 1-1 Contexto geográfico de los puntos de muestreo en champa



Según los datos reportados por el Concejo Municipal de Miraflores (2008), la precipitación del área de estudio presenta valores entre 1.450 y 1.960 mm/año, con una

época de mayor humedad entre marzo y septiembre, un período menos lluvioso entre octubre y noviembre y una época seca en los meses de diciembre a febrero. La temperatura oscila entre 17.5 y 32 °C, con 23°C en promedio. La humedad relativa promedio es de 87% y varía entre 83.6 y 91%.

1.1.2 Biología floral

▪ **Morfología floral**

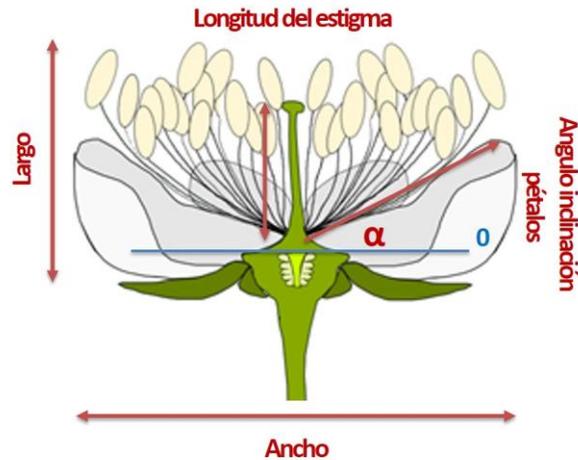
Se realizó la descripción de la flor a partir de observaciones de flores frescas en campo, y se complementó con la información obtenida al observar al estereoscopio 15 flores de diferentes plantas recolectadas en FAA.

▪ **Descripción de etapas florales.**

Para la determinación de la vida floral y de los cambios representativos de la flor durante la antesis, se realizaron las siguientes observaciones:

- Registro de la hora de apertura de 297 flores de 10 plantas diferentes en grupos de 28 flores por planta, en promedio, en la floración del 2012.
- Seguimiento de 30 flores de seis plantas diferentes (cinco flores por planta), en la floración del 2012. Las cuales fueron marcadas desde el estado de botón, y fueron observadas desde las 5 am hasta las 6 pm, cada hora, con el fin de determinar los caracteres morfológicos (cambios en la coloración, distancia entre los sépalos y pétalos, posición de los mismos, posición y apariencia de las anteras y el estigma o diámetro de la flor), que fueran informativos al momento de definir las etapas florales.
- Con base en los cambios detectados en las observaciones realizadas en la floración del 2012, se escogieron las variables ilustradas en la Figura 1-2, para realizar el seguimiento de la flor. Se realizaron medidas en 12 tiempos diferentes con respecto al momento de antesis (0; 0.5; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 4; 5; 6; 7 y 8 horas después de la antesis) se registraron datos de 120 flores correspondientes a 10 plantas diferentes (12 flores por planta), en la floración del 2013.

Figura1-2 Esquema de la flor de *C. lineatifolia* donde se muestran las variables medidas en las distintas etapas florales.



▪ Receptividad estigmática

Durante la floración del 2013 y con base en las observaciones previas de la floración del año anterior, se evaluó este parámetro mediante dos métodos: uno basado en la presencia de enzimas activas en el estigma (peroxidasas) y otro *in vivo* por polinización cruzada manual.

El método de la actividad de la enzima peroxidasa se realizó siguiendo a Zeisler (1938) citado en Osborn *et al.* (1988). La respuesta se consideró positiva cuando se formaron burbujas inmediatamente después de la inmersión del estigma en peróxido (3%). Esta prueba se realizó en 5 flores de diferentes plantas y para cada una de las etapas florales.

Para el segundo método, se polinizaron manualmente flores en cada etapa floral con una mezcla de polen procedente de por lo menos 3 plantas externas al grupo experimental. En este ensayo fue necesario emasculiar las flores con el fin de evitar una posible autopolinización en un horario diferente al que se deseaba probar. Las flores se embolsaron con malla de tul antes y después de efectuada la polinización manual; después de 24 horas se retiraron los estilos de las flores y se fijaron en FAA con el fin de utilizar el procedimiento descrito por Martin (1959) para observar los tubos polínicos al microscopio de epifluorescencia. Para determinar la receptividad del estigma se contaron los tubos polínicos que habían alcanzado un desarrollo, al menos hasta la mitad del estilo.

El número de flores utilizado para esta prueba fue de 120, provenientes de 10 plantas diferentes, 12 flores por planta, cada flor de una misma planta evaluada en una de las 12 etapas (0; 0.5; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 4; 5; 6; 7 y 8 horas después de la antesis).

▪ **Viabilidad del polen.**

En primera instancia se realizó una determinación previa de la concentración más favorable para la germinación del polen de *C. lineatifolia*. Durante la floración del 2012. Para esto, se preparó una solución de ácido bórico (H_3BO_3) 0.002M y nitrato de calcio ($Ca(NO_3)_2$) 0.006M, en proporción 1:1, sobre la cual se prepararon soluciones con diferentes concentraciones de sacarosa. En total se prepararon 5 soluciones con concentraciones de: 0, 15, 30, 45 y 60 % (P/P). Posteriormente se realizaron los diferentes montajes, que consistían en sembrar en placas estériles para cultivos de células, una mezcla de polen proveniente de flores de diferentes plantas, en distintas etapas, a la cual se le agregaban cinco gotas de solución (se realizaron 8 réplicas por concentración). El montaje se dejó en reposo durante 24 horas, a temperatura ambiente y posteriormente se tiñó cada uno de los puntos de siembra con azul de metileno para observar los granos de polen en el microscopio y realizar las cuantificaciones correspondientes. Se escogió la solución de 15% por presentar los valores más altos de germinación.

Una vez determinada la concentración óptima de sacarosa para la germinación de polen, durante la floración de 2013, se procedió a evaluar la viabilidad de polen por estados de apertura de la flor. Para esta fase del experimento el número de flores utilizado fue de 120, provenientes de 10 plantas diferentes, 12 flores por planta, cada flor de una misma planta fue evaluada en una de las 12 etapas (0; 0.5; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 4; 5; 6; 7 y 8 horas después de la antesis).

Cuando la flor alcanzaba la etapa asignada, se retiraba de la planta y se sacaba el polen. Se sembraba (siguiendo el mismo procedimiento descrito en la selección de solución de sacarosa). Se consideraron viables los granos de polen que presentaron crecimiento de uno o más tubos polínicos.

La cuantificación de granos de polen se realizó en microscopio óptico en un aumento de 10X, de forma aleatoria, hasta contar mínimo 100 granos de polen en campos distantes entre sí. Posteriormente se calculó el porcentaje de polen viable.

- **Detección de recompensas y atrayentes**

- *Producción de néctar:*

Se recolectaron tres flores de plantas diferentes, en cada uno de los doce tiempos (0; 0.5; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 4; 5; 6; 7 y 8 horas después de la antesis), para extraer y medir el néctar utilizando para ello capilares calibrados.

- *Detección de osmóforos:*

Con el fin de detectar las zonas de la flor implicadas en la producción de aromas se realizó el procedimiento propuesto por Kearns y Inouye, (1993). Se tomaron 3 flores de cada uno de los doce tiempos (0; 0.5; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 4; 5; 6; 7 y 8 horas después de la antesis) y se sumergieron en una solución de rojo neutro 1:10.000 durante 20 minutos, posteriormente se observaron con el estereoscopio para evidenciar que zonas de la flor resultaban teñidas. Se consideró que las áreas teñidas corresponden a tejidos productores de aromas.

1.1.3 Biología reproductiva

Se realizó la estimación de la relación polen/óvulo y el cálculo del índice de xenogamia según lo propuesto por Cruden (1977). Estos procedimientos complementaron los resultados obtenidos en los experimentos realizados en campo.

- **Relación polen-óvulo**

Para 10 flores provenientes de diferentes plantas se hizo el conteo de óvulos y de granos de polen. El conteo de los óvulos se realizó colocando cada ovario en 1000 μ l de KOH (1 N) al baño maría por 30 minutos y después se realizó un “squash” en una lámina portaobjetos en la que se efectuó el conteo en el microscopio óptico en un aumento de 4x.

La cantidad de polen por flor se estimó a partir del conteo, del polen de una antera sometida al baño maría en 100 μ l de KOH (1N) por 30 minutos, bajo microscopio óptico

en un aumento de 10x, posteriormente este valor se multiplicó por el número de anteras de la flor.

Según la escala propuesta por Cruden (1977) una planta puede tener los siguientes sistemas reproductivos: Cleistogamia ($P/O=4.7 \pm 0.7$), Autogamia obligada ($P/O= 27.7 \pm 3.1$), Autogamia facultativa ($P/O= 168.5 \pm 22.1$), Xenogamia facultativa ($P/O= 796.6 \pm 87.7$) o Xenogamia ($P/O= 5859.2 \pm 936.5$).

▪ **Índice de xenogamia**

Con base en las observaciones realizadas en campo se asignaron valores a las siguientes características florales: diámetro, separación temporal de funciones reproductivas, separación espacial de anteras y estigma. La asignación de efectuó de acuerdo a los siguientes valores sugeridos por Cruden (1977):

Diámetro de la flor: menos de 1 mm =0; 1-2 mm =1; 2-6 mm =2; >6 mm =3. Separación temporal de la dehiscencia de la antera y la receptividad estigmática: homogamia o protoginia = 0; protandria =1; Posición de anteras y estigma: igual nivel= 0; espacialmente separadas= 1. La sumatoria de los valores proporcionó el índice para la especie.

▪ **Sistema reproductivo**

Durante las floraciones de marzo de 2013 y marzo de 2014 se marcaron botones próximos a abrir y se realizaron experimentos de polinización controlada que se indican a continuación:

- Agamosperma, a los botones asignados a esta prueba se les realizó anterotomía al momento de la antesis y se aislaron para confirmar la formación de frutos de forma asexual.
- Autopolinización espontánea, para este experimento se embolsaron los botones asignados para comprobar si hay polinización con polen de la misma flor.
- Autopolinización manual, las flores se polinizaron con polen de la misma flor, posteriormente se emascularon y se embolsaron, para comparar los resultados con los obtenidos con la polinización espontánea y evidenciar si un vector externo favorece la autopolinización.
- Geitonogamia, las flores se emascularon y se polinizaron con polen de la misma planta y se embolsaron posteriormente para determinar si hay autocompatibilidad.

- Xenogamia, para determinar si se presenta polinización cruzada las flores asignadas a esta prueba se polinizaron manualmente con polen proveniente de mínimo 3 plantas donantes diferentes a la evaluada, después de la polinización las flores fueron emasculadas y embolsadas.
- Polinización natural, en este caso las flores marcadas para este tratamiento se dejaron expuestas a la acción de los polinizadores, este tratamiento se usó como control.

Las flores a las que se les aplicaron tratamientos que requerían polinización, fueron emasculadas después de la polinización, que se realizó entre las 6:30 y las 7:30 am, con polen recolectado a esas mismas horas, los tratamientos que requerían aislamiento se efectuaron usando bolsas de tul blanco.

A siete flores de cada tipo de experimento (provenientes de plantas diferentes) se le recogieron los estigmas en FAA a las 24 horas de aplicado el tratamiento, posteriormente, en el laboratorio se procesaron siguiendo el protocolo de Martin (1959) para la observar la formación de tubos polínicos en el microscopio de epifluorescencia. En cada estigma se contaron los tubos polínicos que habían alcanzado un desarrollo, aunque se contaron los tubos polínicos formados a diferentes alturas del estigma se hizo énfasis en el análisis en los tubos que habían crecido al menos hasta la mitad del estilo.

A las flores asignadas a la observación de formación de frutos en cada tratamiento se les hicieron tres revisiones. El número de flores utilizado para cada tratamiento se muestra en la tabla 1-3.

Los tiempos para efectuar las revisiones se determinaron con base en los momentos de cuajamiento y madurez reportados por Balaguera-López (2011), la primera aproximadamente a los 20 días de realizado el tratamiento, en el que se evidenció el cuajamiento de fruto por el hinchamiento del ovario, una segunda revisión en la que se detectaron los frutos que ya han alcanzado un tamaño medio con referencia al tamaño esperado en la madurez (retención inicial); y una revisión final aproximadamente a los 145 días (retención final), tiempo requerido para la maduración del fruto, en la cual se recolectaron los frutos disponibles y se les midió el diámetro polar, diámetro ecuatorial, peso, número y dimensión de las semillas.

1.1.4 Polinizadores

▪ Frutos formados a partir de botones expuestos y botones excluidos:

El efecto de la actividad de los polinizadores en general se evaluó con la comparación entre la formación de frutos a partir de 338 flores embolsadas desde botón (84 flores en 2013 y 254 flores en 2014) y 245 flores que permanecieron expuestas a los polinizadores (94 flores en 2013 y 151 flores en 2014).

▪ Visitas controladas

Adicionalmente se hicieron ensayos de visitas únicas y visitas múltiples, tomando como base los trabajos realizados por Calderón-Acero (2012) y Calderón-Acero & Nates-Parra (2013), en los que encontraron que los principales visitantes y potenciales polinizadores de *C. lineatifolia* son *Apis mellifera*, *Melipona* sp. y *Partamona* sp. Por lo cual las observaciones se enfocaron en las visitas controladas de estas especies para complementar la información obtenida en estos estudios previos y establecer el efecto de la actividad de los principales agentes transportadores de polen.

- Visitas únicas:

Se embolsaron 122 botones florales que fueron expuestos a una única visita, luego emasculados y vueltos a embolsar, a 58 botones se les retiró el estigma a las 24 horas después de la visita para ser procesado según Martin (1959) y realizar el conteo de tubos polínicos formados. Las flores restantes se dejaron hasta la formación de frutos.

- Visitas múltiples

Se embolsaron 146 botones florales que fueron expuestos a más de una visita, después de emasculados y reembolsados se dejaron hasta la formación de frutos.

Tanto para los ensayos de visitas únicas como para los de visitas múltiples que se dejaron para la formación de frutos se realizaron tres revisiones la primera aproximadamente a los 20 días, que corresponde al tiempo de cuajamiento según el estudio de Balaguera-López (2011), una segunda revisión en la que se detectaron los frutos que ya han alcanzado un tamaño medio para corroborar la retención inicial; y una revisión final aproximadamente a los 145 días (retención final en la cual se recolectaron los frutos disponibles y se les midió el diámetro polar, diámetro ecuatorial, peso, número

y dimensión de las semillas. Se consideró aborto de los frutos cuando estos cayeron entre los 20 y los 145 días después de la floración, ya que este último es el tiempo definido por Balaguera-López (2011) como el que necesita el fruto para alcanzar el estado de “Fruto en madurez de consumo”.

1.1.5 Dependencia de polinizadores

Con base en los experimentos de polinización y visitas controladas se determinó la dependencia de polinizadores según la clasificación propuesta por Klein *et al.* (2007), el porcentaje se calculó con base en la reducción en la producción de frutos, teniendo en cuenta la diferencia entre los tratamientos control (en el que se dejaron las flores expuestas a la polinización abierta) y los resultados de flores que se excluyeron con el embolsamiento.

1.1.6 Análisis de datos

Para las secciones de morfología, hora de apertura y relación polen/óvulo se utilizaron estadísticas descriptivas. Para los cambios florales se verificó la normalidad de los datos con la prueba de Shapiro–Wilk y se realizó la exploración de la relación de estos cambios con la temperatura y la humedad por medio de una correlación de Spearman. La receptividad estigmática y la viabilidad de polen se evaluaron con la prueba de Kruskal-Wallis, previa evaluación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza mediante la prueba de Levene.

Para evaluar el sistema reproductivo se usó la prueba de Kruskal-Wallis para detectar diferencias significativas entre la producción de tubos polínicos a partir de los diferentes tratamientos. La evaluación de las diferencias en la retención de frutos se realizó con la prueba de Chi-Cuadrado, siguiendo las indicaciones de la página web (Kirkman 1996), seguidamente se realizaron comparaciones múltiples entre pares de tratamientos por medio del test exacto de Fisher (McDonald 2014), con una corrección de Bonferroni para evaluar la significancia del test.

Para los datos de características de los frutos y semillas se hicieron comparaciones sobre los estadísticos descriptivos (Promedio y desviación estándar), Asimismo para los datos de formación de frutos de frutos expuestos y excluidos.

Para los ensayos de visitas controladas se hizo la comparación con respecto al tipo de visitante, mediante comparaciones pareadas con la prueba de Mann-Whitney con ajuste del valor-p con el procedimiento de Holm. Para detectar diferencias entre las dos categorías de número de visitas se realizaron comparaciones con el test exacto de Fisher con un ajuste del valor P con la corrección de Bonferroni ($\alpha/K=0,05/4=0,0125$).

Las pruebas estadísticas se realizaron con software STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.

1.2 Resultados

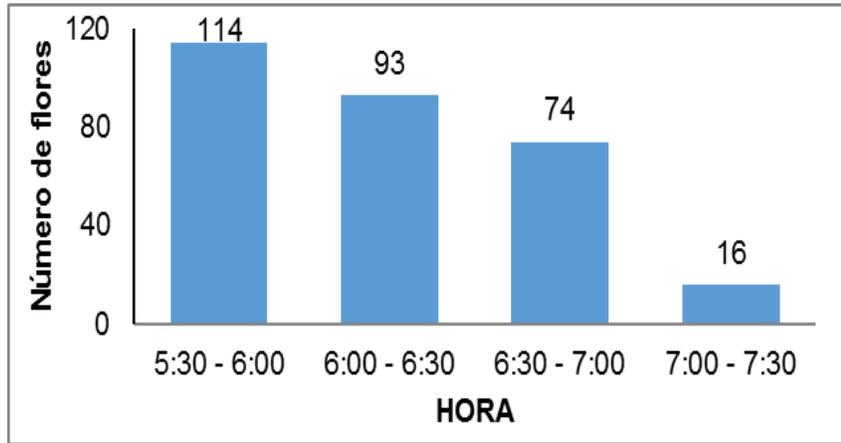
1.2.1 Biología floral

▪ Morfología floral

C. lineatifolia tiene flores solitarias, perfectas, completas y actinomorfas; sostenidas por un pedúnculo pubescente con dos bracteolas lineares de hasta 4 mm de largo, caducas antes de la antesis; cáliz abierto (sépalos libres) con 5 lóbulos oblongos; cinco pétalos blancos, libres, suborbiculares, de 1.3 ± 0.19 cm de diámetro, con margen pubescente, hipantio campanulado de hasta 0.5 cm de largo. 150 ± 15 estambres de 0.7 a 1.2 cm de largo, anteras oblongas, de hasta 2.5 mm, con dehiscencia longitudinal y una glándula apical. Estilo de 0.83 ± 0.26 cm de largo, ovario con 6 – 12 lóculos, ca. 6 óvulos por lóculo.

▪ Etapas florales.

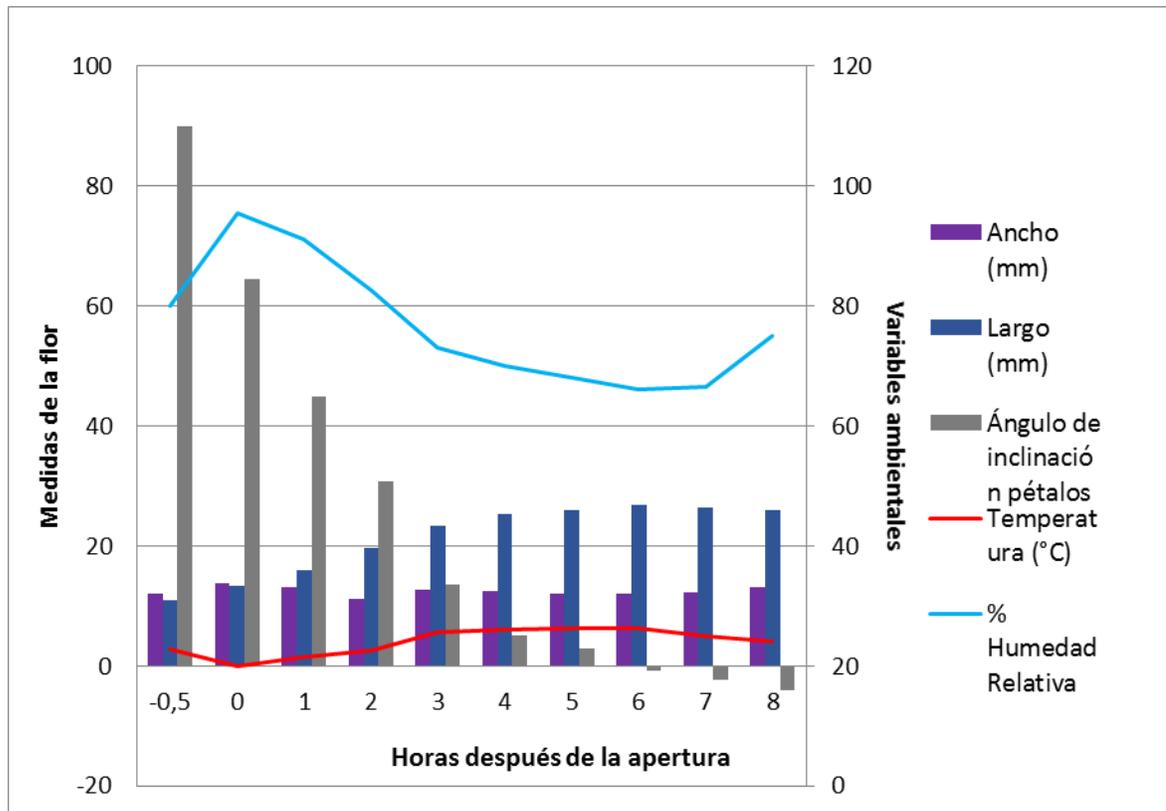
La antesis se presenta desde las 5:30 am hasta las 7:30 am, en la Figura 1-3 se muestra el número de flores que abren en los diferentes rangos horarios, de las 297 flores a las que se les registró este parámetro, el 70 % (207 flores) abren antes de las 6:30 am.

Figura 1-3 Hora de apertura de las flores de *C. lineatifolia*

Se registró el tiempo desde la apertura floral hasta la presencia de signos de senescencia (pérdida de turgencia o caída de pétalos y marchitamiento de las anteras) para 30 flores; se encontró que las flores duran entre 7,75 y 10 horas, con un promedio de $9,01 \pm 0,69$ horas. No se observaron cambios mayores en la coloración de las partes florales, únicamente se observaron cambios referentes a la apertura floral, fáciles de evidenciar mediante la medida de los ángulos de los verticilos y diámetros polar y ecuatorial de la flor.

En la Figura 1-4. Se presentan los valores promedio de los cambios en la posición de los verticilos a lo largo de la vida floral. Los cambios más notables se presentan en el ángulo de inclinación que disminuye a medida que avanza el día, en tanto que el diámetro ecuatorial va en aumento.

Figura 1-4 Cambios durante la vida floral de *C. lineatifolia*



Dado que los datos no cumplen con normalidad (Prueba de Shapiro–Wilk, $p < 0,05$) se realizó la exploración de la relación de estos cambios con la temperatura y la humedad por medio de una correlación de Spearman, pero no se obtuvieron correlaciones fuertes (Tabla 1-1).

Tabla 1-1 Resultados de la correlación de Spearman entre las medidas florales y las variables climáticas

Variable	Temperatura	Humedad
Largo	-0,109863	0,137847
Ancho	0,460701	-0,426279
Ángulo Pétalos	-0,519489	0,498679
Longitud estigma	-0,067093	0,082768

La longitud del estigma no tiene relación con la temperatura o la humedad. El ángulo de los pétalos, que determina indirectamente el ancho y largo de la flor, presenta una

correlación negativa con la temperatura y una correlación positiva con la humedad relativa.

▪ Receptividad estigmática

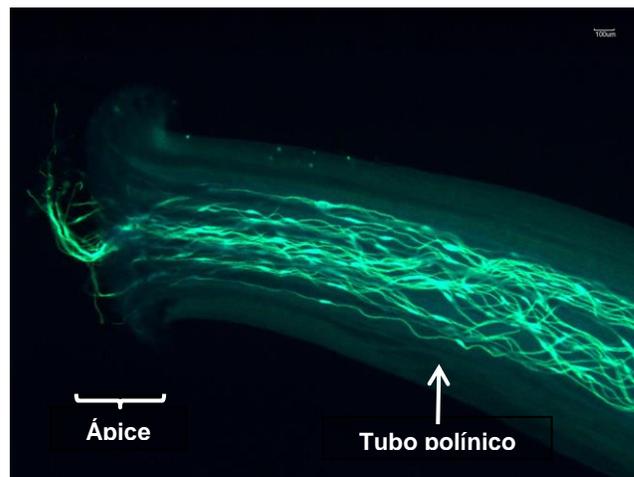
La prueba de la peroxidasa indicó receptividad del estigma desde el estado de botón hasta el inicio de la senescencia floral, ya que todos los estigmas evaluados tuvieron efervescencia al contacto con el peróxido.

Para la prueba de tubos polínicos se encontró que en todas las etapas se formaron estas estructuras, es decir hay receptividad en todas ellas. En la Figura 5 se muestra el ejemplo de un estigma con alto número de tubos polínicos formados.

Si bien los números de tubos contados a las distintas alturas del estigma, son diferentes, siempre son menores en la base. Todas las medidas muestran la misma tendencia al descenso a medida que avanza la vida floral, se utilizó la medida de la región media para hacer los análisis.

Los datos no cumplen con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza (prueba de Levene, $p < 0,05$), por lo cual se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis para evaluar el efecto de la edad floral sobre receptividad de estigma. No se encontraron diferencias significativas en el número de tubos polínicos registrados en la mitad del estilo para las diferentes edades de la flor ($H = 9,203362$ $gl = 11$ $p = 0,6031$).

Figura 1-5 Estigma de *C. lineatifolia* con tubos polínicos observados en microscopio de fluorescencia.



Sin embargo, aunque no hay diferencias estadísticas, se observó una mayor receptividad de estigma en las primeras horas de anthesis (Figura 1-6).

▪ **Viabilidad del polen.**

Los resultados de esta prueba se sometieron a la prueba de Levene, ($p < 0,05$) y se encontró que no cumplen los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, por lo que el conjunto de datos se sometió a una prueba de Kruskal-Wallis, y no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de germinación de polen registrado para las diferentes edades de la flor ($H=8,473980$ $gl=11$ $p= 0,6703$). En la figura 1-7, se muestran granos germinados observados durante esta prueba.

Figura 1-6 Número de tubos polínicos contados en la región media del estilo

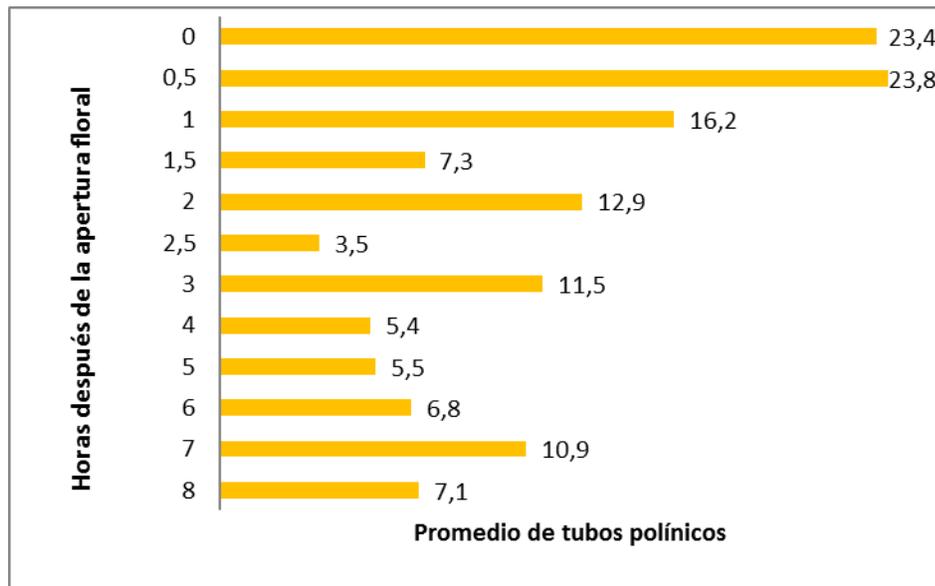
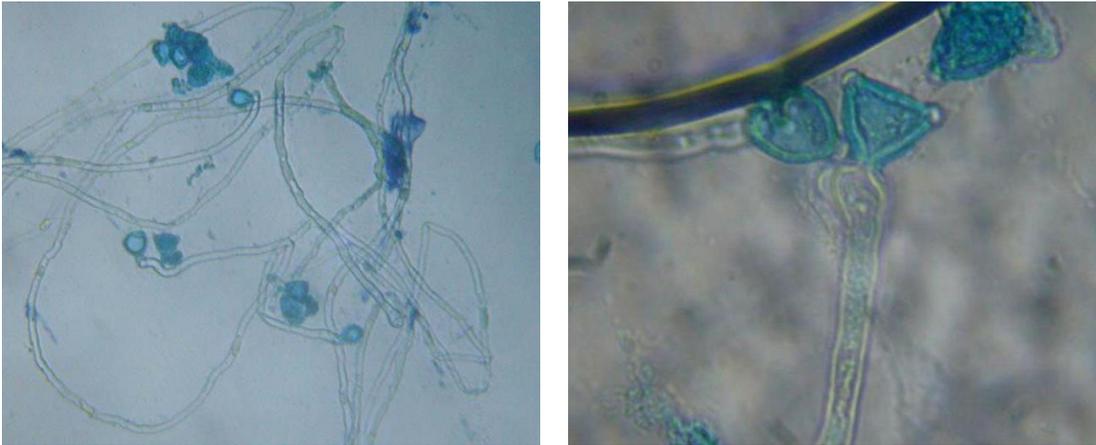


Figura 1-7 Vistas de la prueba de germinación de granos de polen de *C. lineatifolia*.



Los granos de polen se ven teñidos por el azul de metileno y los filamentos que salen de ellos corresponden a los tubos polínicos que evidencian la viabilidad.

▪ **Detección de recompensas**

▪ Producción de néctar:

La flor de *C. lineatifolia* no ofrece néctar como recompensa, los intentos de medición con capilares no arrojaron ningún resultado. A esto se suma el hecho de que durante las mediciones realizadas los visitantes florales observados solamente recogían o consumían polen.

▪ Detección de osmóforos:

Las flores sumergidas en la solución de rojo neutro únicamente se teñían en la región de las anteras.

▪ **Etapas florales**

Aunque no se lograron definir fases florales según las funciones femenina y masculina, porque no presentaron diferencias marcadas a lo largo de la vida floral, se pueden diferenciar cinco etapas de la flor, que se ilustran en la tabla 1-2.

No se presentó una tendencia marcada en los cambios morfológicos según la edad floral, se encontró que las principales variables que la definen son los ángulos de las partes florales, y los diámetros florales que son medidas indirectas del grado de apertura floral.

Tabla 1-2 Descripción de las etapas florales de *C. lineatifolia*

Etapa	NOMBRE	DESCRIPCIÓN	IMAGEN
0	Botón pre-antesis	El botón mide más de 10 mm de diámetro y el cáliz se ha separado, ya se pueden ver los pétalos, de color blanco, aunque aún están imbricados y encerrados por el cáliz. Ya en esta fase el aroma es notable. Se presenta principalmente entre las 4 y 6 de la mañana, raramente se ven botones en este estado después de las 8 am.	
1	Recién abierta	Los pétalos comienzan a soltarse y se comienza a abrir la corola, a través de ese espacio se ven las anteras. El aroma es muy marcado. Las anteras ya están dehiscentes. Hay contacto de las anteras con el estigma. Las visitas de abejas comienzan desde esta fase. Principalmente entre las 5:30 y las 7:00 am. Es una fase que dura pocos minutos en cada flor.	
2	Apertura media	Los sépalos tienen un ángulo mayor o igual a 50° con respecto a la base de la flor, las anteras del centro de la flor permanecen apretadas, el ápice del estilo es verde las anteras aún están de color blanco-crema. El aroma es intenso. Se presenta principalmente entre las 6 y las 8 de la mañana, hacia la primera hora después de la apertura floral, pero es una fase que dura pocos minutos en cada flor.	
3	Apertura completa	Los sépalos tienen un ángulo menor a 50° con respecto a la base de la flor, es la fase donde se alcanza el mayor diámetro floral. Las anteras, tanto las de la periferia como las del centro de la flor están sueltas, incluso se puede observar un pequeño espacio de la base de inserción del estigma; el aroma es intenso. La duración es variable, pero es la fase más larga.	
4	Marchitez	Los pétalos están horizontales o con ángulo negativo con respecto a la base de la flor, pierden turgencia, las anteras y el estigma comienzan a tomar tonos parduscos y a secarse, al final de la fase las anteras se secan, se tornan pardas y se caen, los pétalos también son más caedizos, el estigma (que se ve senescente) y el cáliz son remanentes. Es de duración variable, algunas flores comienzan a mostrar signos de senescencia hacia el mediodía, otras más entrada la tarde, algunas pierden completamente las anteras y los pétalos en la misma tarde del día en el que abrieron, otras los pierden al otro día.	

1.2.2 Biología reproductiva

▪ Relación polen-óvulo

Se encontró que una flor de chamba tiene en promedio 759.468 ± 218.042 granos de polen y 60 ± 5 óvulos. La relación polen/óvulo es de 12.799 ± 3.999 , es decir el sistema reproductivo es xenógamo según Cruden (1977).

▪ Índice de xenogamia

Con los datos obtenidos se calculó un índice de xenogamia de *C. lineatifolia*: Diámetro de la flor: $>6 \text{ mm} = 3$. Separación temporal de la dehiscencia de la antera y la receptividad estigmática: homogamia o protoginia = 0; Posición de anteras y estigma: igual nivel = 0.

El índice es igual a 3, por lo cual se clasifica como auto-compatible, con cierta demanda por polinizadores.

▪ Sistema reproductivo

▪ Formación de tubos polínicos:

Aunque en todos los tratamientos de biología reproductiva y en los ensayos de visitas únicas, se formaron tubos polínicos, los mayores valores promedio de formación de tubos polínicos en la región media del estilo los presentó el tratamiento control, en la Figura 1-8 se ilustran los promedios encontrados para cada tratamiento. Las desviaciones de los datos obtenidos para cada tratamiento son altas y estadísticamente no muestran diferencias significativas Kruskal-Wallis test: $H (gl= 6, N= 101) = 4,899290$ $p = 0,5568$. A pesar de estos resultados se observa que el número de tubos polínicos es mayor cuando hay exposición a los polinizadores en las diferentes partes del estigma, incluso, en la zona basal es más notable la tendencia del tratamiento control a presentar más formación de tubos polínicos.

▪ Formación de frutos

La retención inicial para todos los tratamientos mostró un alto porcentaje de flores que abortan, entre el 87 y el 100 % de los botones evaluados. De estos es de resaltar que el tratamiento de agamospermia no hubo formación de frutos y que el mayor número de frutos formados corresponde a los tratamientos control y Xenogamia. De los frutos que cuajan o son retenidos inicialmente no siempre todos llegan a la madurez, y nuevamente los tratamientos de Control y Xenogamia se encuentran entre los que exhiben menor tasa de aborto, de frutos en este caso (Tabla 1-3).

Figura 1-8 Promedio de tubos polínicos según el tratamiento de polinización y la región del estilo. Se presenta promedio \pm error estándar

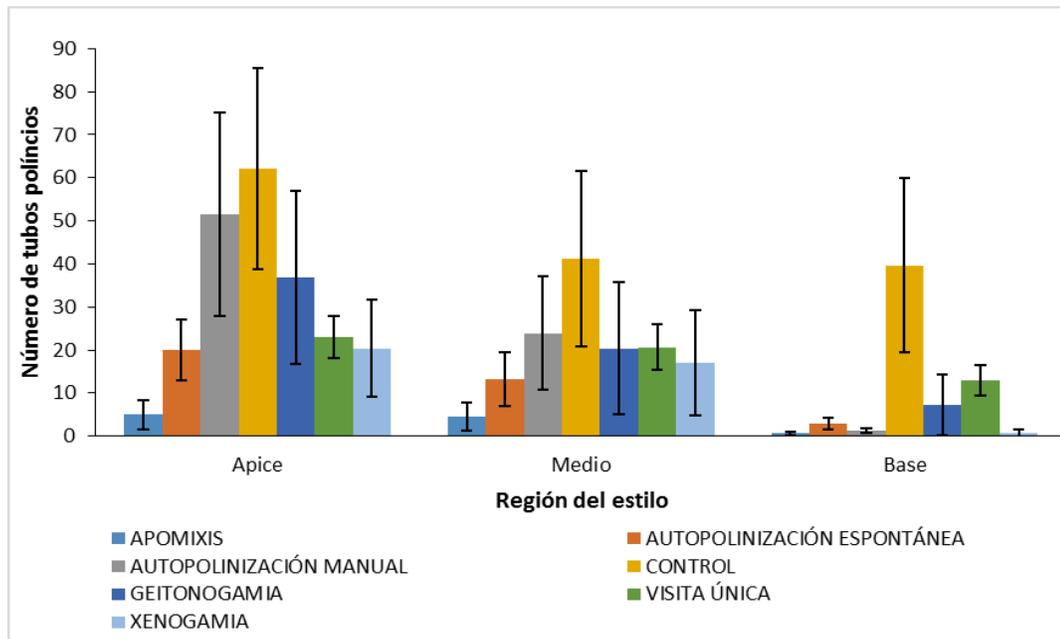


Tabla 1-3 Resumen de resultados de retención de frutos para los tratamientos de biología reproductiva y para ensayos de visitas de abejas

Tratamiento	Flores	Retención inicial 75 - 80 días	Porcentaje de retención inicial	Retención final 125-150 días	Porcentaje de retención final	tasa de frutos abortados
AGAMOSPERMIA	64	0	0,0	0	0,0	*
AUTOPOLINIZACIÓN ESPONTÁNEA	273	9	3,3	2	0,7 b	0,78
AUTOPOLINIZACIÓN MANUAL	73	4	5,5	3	4,1 ab	0,25
CONTROL	165	20	12,1	16	9,7 a	0,20
GEITONOGAMIA	66	1	1,5	1	1,5 ab	0,00
XENOGAMIA	95	14	14,7	13	13,7 a	0,07
VISITA MÚLTIPLE *	146	15	10,3	8	5,5 ab	0,47
VISITA ÚNICA *	64	3	4,7	3	4,7 ab	0,00

*No corresponden a tratamientos de biología reproductiva, ya que pueden producir apareamientos por autogamia, geitonogamia, o xenogamia, sin embargo se incluyen para comparar los resultados con los tratamientos efectuados y brindar soporte la discusión que se presenta más adelante.

Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos realizando la evaluación de las diferencias en la retención de frutos con la prueba de Chi-Cuadrado, con la prueba de Fisher (McDonald 2014), se encontraron diferencias significativas en la retención de frutos tanto en la primera revisión ($\chi^2 = 25,4$; gl= 6; $P= 0,000$) como en segunda revisión ($\chi^2=33,6$; gl= 6; $P= 0,000$). Las diferencias entre tratamientos fueron las mismas en la primera revisión y en la segunda revisión. En la columna de retención final de la Tabla 1-3 se muestran valores marcados con letras, los que tienen la misma letra no son estadísticamente diferentes.

En este análisis se omitió el tratamiento de agamospermia, ya que no hubo retención de frutos, se encontró una tendencia similar a lo obtenido con el análisis de tubos polínicos, en la que los tratamientos Xenogamia y Control fueron los que obtuvieron mayor cuajamiento de frutos. De los resultados obtenidos a partir de visitas de abejas, que no constituyen tratamientos para determinar el sistema reproductivo, se presentarán resultados en la sección de polinizadores, aunque cabe anotar que resultaron similares estadísticamente a los tratamientos de Geitonogamia y Autopolinización manual.

▪ *Características de frutos y semillas*

Dado que el porcentaje de frutos que llega a la madurez es tan bajo, se presenta el resumen de los promedios obtenidos en la Tabla 1-4.

Tabla 1-4 Características de los frutos y semillas obtenidos para cada tratamiento de biología reproductiva y para ensayos de visitas de abejas.

Tratamiento	Autopolinización Espontánea	Autopolinización Manual	Control	Geitonogamia *	Xenogamia	Visita Múltiple**	Visita Única**
% Frutos formados	0,73	4,11	9,7	1,52	13,68	5,48	4,69
Diámetro Polar	22,93 ± 0,88	22,11 ± 6,31	23,7 ± 2,92	24,22	22,16 ± 3,08	23,79 ± 5,68	22,62 ± 1,8
Diámetro ecuatorial	32,85 ± 2,98	30,04 ± 7,69	32,07 ± 3,69	34,32	30,62 ± 4,06	31,94 ± 5,42	32,37 ± 1,81
Peso total	16,39 ± 5,64	13,47 ± 10,07	17,9 ± 7,92	20,37	13,55 ± 5,45	15,79 ± 10,93	15,55 ± 2,85

Tratamiento	Autopolinización Espontánea	Autopolinización Manual	Control	Geitonogamia *	Xenogamia	Visita Múltiple**	Visita Única**
Peso pulpa	11,18 ± 4,61	8,3 ± 8,45	12,26 ± 6,51	14,99	8,72 ± 4,95	11,11 ± 10,05	10,24 ± 1,97
Número de Semillas	7 ± 0	7 ± 2,65	7,43 ± 1,4	5	6,77 ± 2,05	7,75 ± 0,71	8 ± 0
Peso semilla	0,23 ± 0,04	0,22 ± 0,06	0,25 ± 0,04	0,28	0,24 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,23 ± 0,01
Alto semillas	10,36 ± 0,16	9,11 ± 1,36	10,23 ± 0,45	9,98	10,06 ± 0,5	9,75 ± 0,44	10,13 ± 0,27
Ancho semillas	9,05 ± 0,28	8,08 ± 0,8	8,78 ± 0,61	9,11	8,29 ± 0,43	8,06 ± 0,33	7,92 ± 0,14
Grosor semillas	3,71 ± 0,1	3,78 ± 0,1	3,57 ± 0,24	4,11	3,56 ± 0,3	3,39 ± 0,25	3,26 ± 0,06

* Solamente se obtuvo un fruto por lo que no se muestra desviación

**No corresponden a tratamientos de biología reproductiva, ya que pueden producir apareamientos por autogamia, geitonogamia, o xenogamia, sin embargo se incluyen para comparar los resultados con los tratamientos efectuados y dar soporte la discusión que se presenta más adelante.

El tratamiento que presentó mayor porcentaje de formación fue el de xenogamia, seguido del tratamiento control o de polinización abierta y los de visitas controladas.

Con respecto al peso del fruto, los mayores valores se obtuvieron con el tratamiento de geitonogamia, pero este dato se basa en un único fruto, los frutos que le siguen son los del tratamiento control, en cuanto a las semillas, se encontró que, si se omite el dato de geitonogamia, el tratamiento control y los de visitas controladas produjeron más semillas, control y xenogamia son los tratamientos que producen semillas más pesadas aunque no necesariamente de mayores dimensiones.

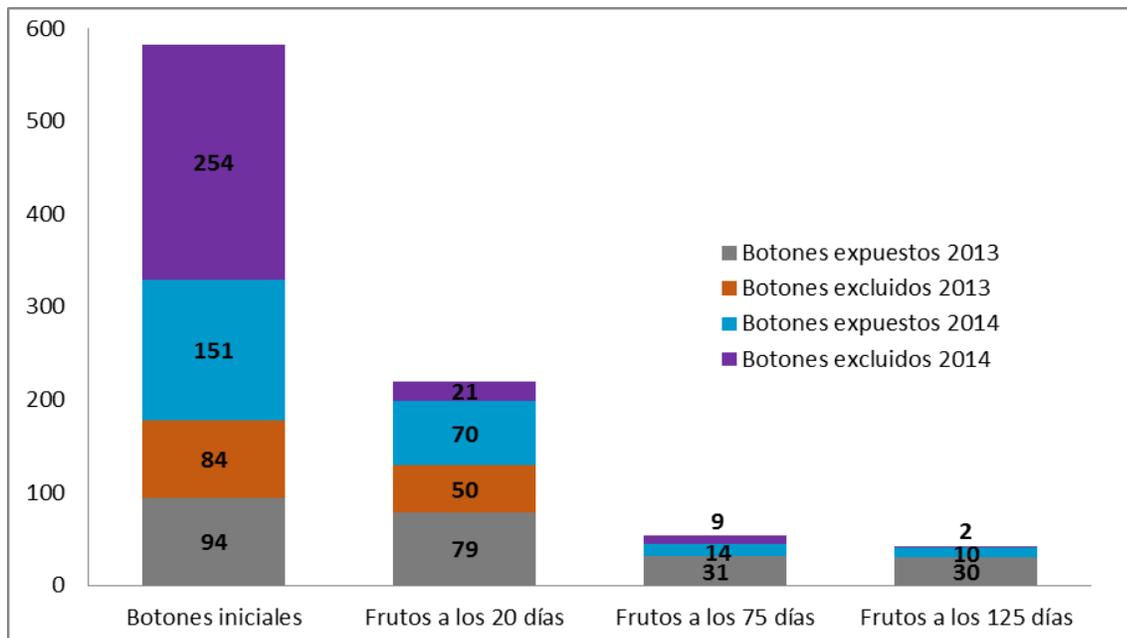
1.2.3 Polinizadores

- **Frutos formados a partir de botones expuestos y botones excluidos:**

Para las flores evaluadas en el 2013 se realizaron tres revisiones en las que se verificó la formación de frutos, los resultados se presentan en la Figura 1-9. En la primera revisión

(20 días después de la antesis) comenzaban a formarse el 84% de los frutos de botones expuestos y el 50 % de frutos de los botones excluidos, en la segunda revisión (75 días), todos los frutos de botones excluidos habían abortado, mientras que el 33 % de los expuestos permanecía. En la última revisión se encontró que el 32 % de los frutos formados a partir de botones expuestos permanecían en buenas condiciones. En el 2014 se encontró una situación similar, sin embargo el 0,8% (2 frutos) de los botones aislados de la acción de polinizadores llegó a convertirse en fruto maduro, y el 6,6% (10 frutos) llegó a ese estado en el grupo de los botones expuestos.

Figura 1-9 Número de frutos formados en botones expuestos vs botones excluidos



▪ **Visitas controladas**

De los ensayos realizados con flores expuestas a un número restringido de visitas se obtuvieron los siguientes resultados

- *Visitas únicas*
 - *Formación de tubos polínicos*

Se obtuvieron muestras de 58 flores que tuvieron una única visita de abeja, en la Tabla 1-5 se muestra el resumen de los resultados obtenidos.

Tabla 1-5 Resultados de formación de tubos polínicos a partir de visitas únicas.

Abeja visitante	Número de flores evaluadas	Promedio de # TUBOS MEDIO	Promedio de Tiempo total de visita en s
<i>Apis mellifera</i>	18	35,89 ± 52,93	42,17± 32,76
HALICTIDAE	10	0,20 ± 0,42	137,60± 146,89
<i>Melipona</i> sp.	16	3,75± 9,18	14,75± 9,67
<i>Partamona</i> sp.	11	32,63± 43,22	52,09± 29,65
<i>Trigona</i> sp.	3	43,67± 59,16	153,33± 146,16

El análisis de los datos correspondientes a visitas únicas muestra que de las 58 flores evaluadas, en 19 (32,8%) no se inició la formación de tubos, es decir no había tubos en el estilo. Además, si se tienen en cuenta únicamente los datos de la región media, se observa que 28 flores (48,3%) no alcanzan este nivel, es decir aproximadamente la mitad de las visitas únicas no cumplen con el papel de la polinización.

Para las comparaciones entre visitas únicas de las diferentes especies se omitieron los datos de Halictidae dado que no hubo presencia de tubos polínicos en la mitad del estilo y los de *Trigona* sp., puesto que solamente se contó con tres réplicas.

Según se muestra en los resultados de la Tabla 1-6, no se encontraron diferencias entre los tubos formados por visitas únicas de las diferentes especies

Tabla 1-6 Resultados de la prueba de comparaciones pareadas Mann-Whitney entre tipo de visitante

Comparación		Valor-p*	Valor P Ajustado	Significancia (Valor P < Valor P-Ajustado)
Ápice				
<i>Melipona</i> sp.	<i>Partamona</i> sp.	0,017	0,05/(3-1+1)= 0,017	NO
<i>Apis mellifera</i>	<i>Melipona</i> sp.	0,101	0,05/(3-2+1)=0,025	NO
<i>Apis mellifera</i>	<i>Partamona</i> sp.	0,472	0,05/(3-3+1)=0,050	NO
Medio				
<i>Melipona</i> sp.	<i>Partamona</i> sp.	0,034	0,05/(3-1+1)= 0,017	NO

Comparación		Valor-P*	Valor P Ajustado	Significancia (Valor P < Valor P-Ajustado)
<i>Apis mellifera</i>	<i>Melipona</i> sp.	0,038	$0,05/(3-2+1)=0,025$	NO
<i>Apis mellifera</i>	<i>Partamona</i> sp.	0,787	$0,05/(3-3+1)=0,050$	NO
Base				
<i>Melipona</i> sp.	<i>Partamona</i> sp.	0,026	$0,05/(3-1+1)= 0,017$	NO
<i>Apis mellifera</i>	<i>Melipona</i> sp.	0,065	$0,05/(3-2+1)=0,025$	NO
<i>Apis mellifera</i>	<i>Partamona</i> sp.	0,770	$0,05/(3-3+1)=0,050$	NO

*Valor P obtenido con la Prueba de Mann-Whitney

○ *Formación de frutos*

En la Tabla 1-7 se muestran las principales características de los 3 frutos obtenidos a partir de las 64 flores sometidas a visitas únicas.

Tabla 1-7 Resultados de la formación de frutos por visitas únicas

Visitante	Flores evaluadas	% frutos formados	promedio semillas/fruto formado	peso total	Diámetro polar	Diámetro ecuatorial
<i>Apis mellifera</i>	17	5,9	8	14,05	22,12	31,88
HALICTIDAE	2	0	-	-	-	-
<i>Melipona</i> sp.	19	5,3	8	18,83	24,62	34,37
<i>Partamona</i> sp.	11	0	-	-	-	-
<i>Trigona angustula</i>	10	10	8	13,76	21,13	30,86
<i>Trigona</i> sp.	5	0	-	-	-	-

▪ **Visitas múltiples**

Para esta evaluación solamente se hicieron ensayos de formación de frutos. Dado que el número de datos resultantes es bajo, se agruparon en dos rangos según el número de visitas, un grupo de dos a seis visitas y el otro grupo con más de seis visitas. En la Tabla 1-8 se indica la identidad de los visitantes, el número de flores evaluado y el porcentaje de frutos formados.

Tabla 1-8 Resultado de los frutos formados a partir de visitas múltiples

Especies visitantes	2-6 visitas			>6 visitas		
	Flores	Frutos	%	Flores	Frutos	%
<i>Apis mellifera</i>	41	2	4,9	23	2	8,7
<i>Apis mellifera, Melipona</i> sp.	17	1	5,9	11	1	9,1
<i>Apis mellifera, Melipona</i> sp., <i>Partamona</i> sp.	-	-	-	2	0	0
<i>Apis mellifera, Partamona</i> sp.	5	0	0	15	1	6,7
HALICTIDAE	1	0	0	-	-	-
<i>Melipona</i> sp.	17	1	5,9	3	0	0
<i>Partamona</i> sp.	5	0	0	-	-	-
<i>Trigona angustula</i>	1	0	0	1	0	0
<i>Trigona angustula, Partamona</i> sp.	3	0	0	-	-	-

Es de resaltar que las flores que fueron visitadas únicamente por abejas de tamaño pequeño (Halictidae, *T. angustula*, *Partamona* sp.) no presentaron formación de frutos.

Para las dos categorías de número de visitas se presenta el resultado de la prueba de Fisher (Tabla 1-9).

Tabla 1-9 Comparación entre resultados obtenidos de las visitas múltiples según el número y tipo de visitantes.

Comparaciones		Valor P	Significancia Valor P<0,0125
2-6 abejas	> 6 abejas	0,711	NO
<i>A. mellifera</i> (2-6 abejas)	<i>A. mellifera</i> (>6abejas)	0,614	NO
<i>Melipona</i> sp.(2-abejas)	<i>A. mellifera</i> (2-abejas)	1,000	NO
<i>A. mellifera, Melipona</i> sp. (2-6 abejas)	<i>A. mellifera, Melipona</i> sp.(>6abejas)	1,000	NO

Los resultados sugieren que la formación de frutos es independiente del número de visitas y de la especie de abeja.

1.2.4 Dependencia de polinizadores

Con base en el resultado de número de frutos formados a partir de los diferentes tratamientos de polinización se observa claramente que en los tratamientos en los que la

flor se expone a polen externo o a la acción de los polinizadores (Xenogamia y polinización abierta) el porcentaje de retención final es mayor (Tabla 1-3), además el tratamiento autopolinización espontánea, en el que se clausuran las flores presenta el porcentaje más bajo.

En el experimento en el que se compararon los frutos formados a partir de flores embolsadas y aisladas de polinizadores con los frutos formados a partir de flores expuestas se tiene que la retención final en las flores clausuradas fue casi nula. De 338 flores clausuradas solamente se obtuvieron 2 frutos, es decir la reducción fue de 99,4 %, con este porcentaje de frutos producidos ausencia de polinizadores (≥ 90 %), se define que en la chamba, la polinización mediada por vectores animales es esencial según la clasificación de Klein *et al.* (2007).

1.3 Discusión

1.3.1 Biología floral

La floración de la chamba en la provincia de Lengupá presenta un comportamiento típico de la subfamilia Myrtoideae, ya que inicia en la transición entre época seca y lluviosa (Lughadha & Proença 1996, Kawasaki 1984, 1989), y en cuanto a patrones de duración y sincronía de la floración, la chamba se describiría como una especie con la estrategia de floración masiva denominada “big-bang” (Gentry 1974, Lughadha & Proença 1996, Frankie *et al.* 1983).

La biología floral de la chamba muestra un patrón similar al de otras Myrtaceae neotropicales (Proença & Gibbs 1994, Caraballo 2001) la hora de antesis es temprano en la mañana, tiene como atrayente el aroma dulce y el único recurso que ofrece es polen. Además la duración no es mayor a un día, posee estigmas secos y un número de óvulos mucho mayor a las semillas que se forman (Lughadha & Proença 1996).

Este trabajo evidenció que el olor se genera del tejido de las anteras y / o del polen como lo reporta Wyk & Lowrey (1988) para varias especies de *Eugenia* en el sur de África. El aroma se constituye en un atrayente importante para la fauna apoidea, sin embargo es necesario realizar cortes y observaciones más detalladas para determinar exactamente el

origen del aroma producido por esta flor, ya que es el atrayente principal y más evidente para los potenciales polinizadores.

La hora de apertura de las flores, temprano en la mañana, es una característica que demuestra sincronía con las obreras del género *Melipona*, uno de los polinizadores nativos registrados por Calderón-Acero (2012), que poseen la tendencia a realizar forrajeo de polen en las primeras horas de la mañana, en las cuales se presentan las temperaturas más bajas y la humedad relativa más alta del día, este comportamiento ha sido reportado por varios autores en diferentes especies del género *Melipona* y en otras regiones (Bruijn y Sommeijer 1997; Hilário *et al.* 2003; Pierrot y Schlindwein 2003; Cortopassi-Laurino 2004; Borges y Bochtein 2005; Souza *et al.* 2006, Carvalho- Zilse *et al.* 2007; Fidalgo y Kleinert 2007; Nates-Parra & Rodríguez-C. 2011; Obregón & Nates-Parra 2014).

No se detectaron fases en las que las funciones sexuales estuvieran separadas, lo cual es otro hecho que promueve la endogamia e *C. lineatifolia*. Lughadha & Proença (1996), discuten la dicogamia en Myrtoideae ya que es difícil registrar protandria en flores de corta duración y más aún cuando la única oferta floral es polen ya que si existe una separación de la función femenina, no hay en esta una recompensa que la caracterice, Los resultados no evidencian la condición de dicogamia ya que existe formación de tubos polínicos y presencia de polen viable en todas las etapas después de la antesis y tampoco hubo diferencias en la longitud del estilo en las diferentes edades de la flor que se evaluaron.

1.3.2 Biología reproductiva

El sistema reproductivo de la chamba según Cruden (1977) corresponde a un sistema xenógamo y el índice de xenogamia sugiere que es una especie autocompatible con cierta demanda por polinizadores. Sin embargo, lo que se encontró en los ensayos de clausuras es que la producción de frutos por autopolinización es prácticamente nula, es decir, el sistema es principalmente xenógamo y los sistemas de aislamiento pueden ser tardíos, si bien hay formación de tubos polínicos, la formación de frutos es baja y se restringe a los tratamientos xenógamos o con intervención de vectores polinizadores.

El conteo de tubos polínicos que hubiesen alcanzado al menos a la sección media del estigma se realizó siguiendo la metodología de Ángel-Coca *et al.* (2011), los datos obtenidos no presentan diferencias significativas, sin embargo los datos de formación de tubos polínicos en la sección basal (Figura 1-8) muestran claramente que en el tratamiento control que tuvo exposición abierta a los polinizadores, la formación de tubos es sensiblemente mayor, lo cual puede estar indicando que la calidad y la cantidad del polen que transportan los vectores naturales son mejores que los utilizados en el cruce manual.

No se puede concluir que hay autoincompatibilidad puesto que hubo formación de tubos polínicos, inicio de formación de frutos (hinchamiento del ovario registrado en la revisión de 20 días) que en algunos casos cuajan pero abortan antes de los 80 días (según la segunda revisión) y no hay retención final, ésto puede estar indicando la ocurrencia de estrategias de barreras o mecanismos tardíos postcigóticos. Aunque la autoesterilidad completa se ha reportado en el grupo (Lughadha & Proença 1996), no se puede reportar para el caso de *C. lineatifolia* por la formación de tubos polínicos mediante los tratamientos de autopolinización y geitonogamia y por la eventual formación de frutos mencionada anteriormente.

Los mecanismos de aislamiento puede darse por depresión por endogamia, depresión por endogamia críptica y autoincompatibilidad de acción tardía son mecanismos difíciles de diferenciar (Jacquemart 2007) incluso algunos autores no los diferencian, en lo que coinciden es en que son mecanismos en los que las flores son polinizadas con polen propio y luego fracasan en la formación de sus frutos a pesar del crecimiento aparentemente exitoso de los tubos polínicos hasta los óvulos (Seavey & Bawa 1986, Facciuto 2007) que es lo que sucede en *C. lineatifolia*.

Además del aborto de frutos, que es alto, se presenta alto aborto de semillas. El fenómeno común en Myrtoideae en el que el número de semillas maduras es mucho menor que el de óvulos se denomina superfluidad de óvulos y se presenta en el género *Campomanesia* (Lughadha & Proença 1996, Landrum 1986) éste fenómeno también se ha propuesto como un carácter inherente a un sistema de auto-incompatibilidad postcigótico.

En este punto es importante mencionar las hipótesis que se han reportado para explicar la abundante floración frente a la baja formación de frutos, por una parte el patrón de

floración “big-bang” que presenta la chamba es descrito por Gentry (1974) como una adaptación para competir por posibles polinizadores y específicamente a la polinización por abejas, al generar un comportamiento oportunista por parte de los potenciales polinizadores que son atraídos por el recurso abundante y abandonan su patrón regular de forrajeo. Este fenómeno puede estar apoyando la hipótesis de atracción propuesta por Guitian (1993) planteada a partir de observaciones de varias especies que presentan un número de flores sensiblemente mayor al número de frutos producido, como ocurre en la chamba.

además de la hipótesis de atracción mencionada anteriormente, existen otras hipótesis: la de reserva de ovarios, en caso de que ocurra mortalidad; la hipótesis de función masculina que consiste en que algunos individuos de la población actúan como donadores de polen aunque sean morfológicamente hermafroditas; la hipótesis de aprovechamiento de la disponibilidad inusual de recursos, que permita a la planta aprovechar una circunstancia ventajosa con muchos recursos y la de aborto selectivo para conservar únicamente frutos formados con características específicas (Guitian 1993). Aunque estas hipótesis no son excluyentes, el aborto selectivo puede ser otra de las explicaciones que se manifiestan en la alta tasa de pérdida de frutos, con lo que se conservarían solo aquellos provenientes de polinización cruzada.

La floración tan abundante y la presencia de anteras dehiscentes incluso antes de la anthesis y sin un orden de apertura con respecto a la distancia al estilo como ocurre en la chamba, corresponde a un tipo de anthesis “tipo *Psidium*” según Proença & Gibbs (1994), el cual puede generar una alta tasa de autogamia, sin embargo, la chamba presenta características comunes a otras especies de Myrtoideae (Lughadha & Proença 1996) que permiten contrarrestar este efecto, como lo son la corta longevidad de la flor y los mecanismos de aislamiento tardíos.

Por otra parte, aunque no se descarta la ocurrencia de apomixis en Myrtoideae, es posible que la presencia de tubos en el tratamiento de apomixis sea el resultado de la interferencia de la autopolinización, ya que antes de la anthesis el estigma ya tiene contacto con las anteras y como se vio anteriormente, ya hay receptividad estigmática y viabilidad polínica pre-antesis.

1.3.3 Polinizadores

Las abejas son las principales polinizadoras de Myrtaceae (Lughadha & Proença 1996). Se ha reportado una estrecha relación entre abejas de lengua corta de la familia Colletidae y varias Myrtaceae en Australia, que es su centro de radiación, y se ha reportado que la relación se ha extendido al neotrópico, es de resaltar el caso de abejas crepusculares del género *Ptiloglossa* con mirtáceas como *Eugenia salamensis* (Frankie *et al.* 1983), *Siphoneugena densiflora* (Proença 1992) que forrajean en horas tempranas del día y presentan una estrecha sintonía con la antesis de estas plantas. Como se mencionó en la sección de descripción de etapas florales, para el caso de la chamba, se ha reportado un acople de este tipo por parte de abejas del género *Melipona* y se ha reportado específicamente en Colombia por Nates-Parra y Rodríguez-C (2011), Calderón-Acero (2012), Obregón y Nates-Parra (2014). Aunque las visitas de abejas de mayor porte se presentan en baja proporción (Calderón-Acero 2012), no se descarta que los polinizadores originales correspondieran a estos grupos y que sus poblaciones hayan disminuido por la actividad antrópica a la que ha sido sometida la región de estudio.

Pese a que las anteras de las mirtáceas son principalmente de dehiscencia longitudinal, se ha encontrado que varias especies, incluidas especies del género *Campomanesia* son polinizadas por zumbido, en este trabajo se destaca este comportamiento exhibido por *Melipona* que se presenta como un comportamiento favorable para la polinización que da cuenta de relaciones ancestrales de coevolución con especialización mutua entre las plantas y los polinizadores según lo propuesto por Proença (1992).

Con los ensayos de visitas únicas y múltiples se observó que una sola visita no es suficiente para garantizar la formación de un fruto. Si bien, hubo formación de tubos polínicos, la tasa de cuajamiento es mínima. Cuando el número de visitas es mayor aumenta la posibilidad de formación de frutos.

El tamaño de la abeja visitante puede estar jugando un papel importante no solamente porque las abejas pequeñas tienen poca posibilidad de tocar las partes reproductivas y transferir polen, sino porque las posibilidades de que en una sola visita se obtenga la carga para llenar la corbícula o la escopa son altas, estas abejas de tamaño pequeño no necesitan visitar flores diferentes para completar sus cargas por lo que su aporte a la polinización cruzada es reducido.

En este aspecto la actividad conjunta de los visitantes es fundamental para promover la transferencia de polen entre individuos diferentes, por una parte la cantidad de individuos generando competencia por el recurso floral produce el movimiento entre la flor y por otra parte se promueve la polinización cruzada al inducir que la abeja que está forrajeando se desplace a otra flor con la llegada de un nuevo visitante.

1.3.4 Dependencia de polinizadores

Aunque los datos de los resultados obtenidos con los diferentes tratamientos de polinización no muestran mayores diferencias, es de resaltar, por una parte, el número de tubos polínicos que se forman en la base del estigma con el tratamiento de control, que implica la participación de vectores naturales. En cuanto al porcentaje de frutos formados a partir de cada ensayo, los tratamientos alógamos presentan porcentajes que superan por mucho a los tratamientos de autogamia y apomixis, esto es el primer indicio que da cuenta de la dependencia que tiene la chamba de vectores para la transferencia de polen proveniente de otras flores.

Por los resultados encontrados se deduce que la formación de tubos polínicos no es por sí solo un indicador de la eficiencia polinizadora ya que puede haber formación de tubos a partir de polen de la misma planta, pero los mecanismos de autoincompatibilidad tardía determinan el aporte real que pueda tener cada visitante, es decir la formación de muchos tubos polínicos no evidencia un buen polinizador, en relación a esto, el tomar la cantidad de polen transportado como componente del cálculo de índices de importancia o probabilidad de polinización no resulta ser una metodología confiable ya que no se puede distinguir entre el polen propio y el polen de origen externo. Para esto se debe dar más peso a caracteres como la capacidad de zumbido y hacer observaciones sobre el patrón de forrajeo que proveen más elementos que a nivel evolutivo permiten dilucidar relaciones estrechas entre la planta y el potencial polinizador. Para que los resultados de formación y características de frutos provenientes de visitas controladas provean información concluyente sería necesario hacer muchas más réplicas dado el alto porcentaje de aborto de frutos. Al momento de analizar el aporte de abejas silvestres y *Apis mellifera* a la polinización de la chamba es difícil disgregar la dependencia de polinizadores dado que se tiene pocos datos por el bajo número de frutos que llegan a la madurez.

Los datos obtenidos permiten bosquejar la tendencia que se esperaba encontrar, en la que la dependencia de abejas polinizadoras se corrobora, en la que se observa que las abejas con mayor posibilidad de generar la formación de más y mejores frutos son *A. mellifera* y *Melipona*, en la que se pone de manifiesto que una mayor cantidad de visitas favorece el cuajamiento y en el que se apoya la idea de que la acción conjunta de las abejas nativas y *A. mellifera* contribuyen al éxito reproductivo de las especies vegetales.

1.4 Conclusiones

C. lineatifolia presenta antesis diurna entre las 5:30 y las 7:30 AM, con una duración aproximada entre 8 y 10 horas.

El principal atrayente floral de la chamba es el aroma, que se produce en osmóforos ubicados en las anteras.

La única recompensa que la chamba ofrece a sus visitantes es el polen.

No se evidencia separación de las funciones reproductivas y por lo tanto no se pueden definir fases sino etapas correspondientes a niveles de apertura y edad floral.

La chamba tiene polen viable y receptividad estigmática en todas las etapas de la vida floral, con promedios más altos en las primeras horas después de la apertura, sin embargo no presenta diferencias significativas a lo largo de la edad floral.

Según los ensayos de polinización evaluados con formación de tubos polínicos, puede presentar autocompatibilidad, polinización cruzada, e incluso apomixis, sin embargo, con los experimentos de formación de frutos se evidencia la xenogamia como principal estrategia reproductiva.

La formación de tubos polínicos que contrasta con una baja producción de frutos puede estar evidenciando mecanismos de aislamiento tardíos. Los resultados obtenidos sugieren que la chamba exhibe mecanismos como corta longevidad y aislamientos postcigóticos como depresión por endogamia y superfluidad de óvulos, con los cuales contrarresta el riesgo de autogamia generado por los patrones de floración y etapas florales observados.

Los experimentos en los que no se restringe la actividad de los polinizadores en las flores son los que arrojan altos porcentajes, tanto de formación de tubos polínicos como en

cuajamiento y establecimiento de frutos, lo que indica una alta dependencia de la interacción con los vectores de polen que para el caso de la chamba son abejas.

Los ensayos de visitas únicas no arrojan resultados claros acerca del papel de las diferentes especies como polinizadores, se esperaba que abejas con un comportamiento aparentemente favorable para la transferencia de polen como las del género *Melipona*, generaran altos promedios de formación de tubos polínicos y de frutos, sin embargo, dada la alta pérdida de frutos no es posible dar resultados concluyentes.

Se propone complementar las observaciones con experimentos con más réplicas para biología reproductiva, y realizar más ensayos con visitas múltiples, que pese a generar pocos frutos, presentan mayor producción comparados con otros tratamientos.

El patrón exhibido en las etapas florales es compatible con el síndrome melitofilia y favorece particularmente la actividad de abejas del género *Melipona* que posee la tendencia a forrajear en horas del día y condiciones ambientales que coinciden con las de mayor exposición del aroma como atrayente y del polen como recompensa de la chamba, además *Melipona* obtiene el polen de *C. lineatifolia* por vibración, pese a que posee anteras con dehiscencia longitudinal.

La polinización por abejas es esencial para la formación de frutos de chamba ya que sin este servicio la producción se reduce en más del 90%.

1.5 Referencias

ALMEIDA M., NAVES R.V., XIMENES P.A. 2000. Influência Das Abelhas (*Apis Mellifera*) Na Polinização Da Gabiroba (*Campomanesia* spp.) Pesquisa Agropecuária Tropical 30 (2): 25-28.

ÁNGEL-COCA C, NATES-PARRA G, OSPINA-TORRES R, MELO C.D. AMAYA-MÁRQUEZ M. 2011. Biología floral y reproductiva de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims F. *edulis*). Caldasia. 33 (2): 433-451.

BALAGUERA-LÓPEZ H., HERRERA A. 2012. Determining optimal harvest point for champa (*Campomanesia lineatifolia* Ruiz & Pav.) fruit based on skin color. *Ingeniería e Investigación*. 32 (1): 88-93.

BALAGUERA-LÓPEZ H. 2011. Estudio del crecimiento y desarrollo del fruto de champa (*Campomanesia lineatifolia* Ruiz & Pav.) y determinación del punto óptimo de cosecha. Tesis de Maestría, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia. 138 p.

BONILLA A., DUQUE C., GARZÓN C., TAKAISHI Y., YAMAGUCHI K., HARA N., FUJIMOTO Y. 2005. Champanones, yellow pigments from the seeds of champa (*Campomanesia lineatifolia*). *Phytochemistry*. Jul; 66(14):1736-40.

BORGES F., BLOCHTEIN B. 2005. Actividades externas de *Melipona marginata obscurior* Moure (Hymenoptera, Apidae) en distintas épocas del año, en San Francisco de Paula, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 22(3): 680-686.

BRUIJN L.M. de., SOMMEIJER M.J. 1997. Colony foraging in different species of stingless bees (Apidae, Meliponinae) and the regulation of individual nectar foraging. *Insectes Sociaux* 44: 35-47.

CALDERON- ACERO LV, NATES-PARRA G. 2013. Visitantes y potenciales polinizadores de chamba *Campomanesia lineatifolia* (Myrtaceae) en la provincia de Lengupá, Boyacá, Colombia. En memorias del VIII Congreso mesoamericano de abejas nativas. p 72-79.

CALDERON-ACERO L.V. 2012. Visitantes florales y posibles polinizadores de champa, *Campomanesia lineatifolia* Ruiz & Pav. (Myrtaceae) en cuatro localidades de la provincia de Lengupá, Boyacá. Trabajo de Grado, Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. 53 p.

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

CARVALHO-ZILSE G., PORTO E.L., SILVA C.G., PINTO M.F.C. 2007. Atividades de voo de operarias de *Meliponaseminigra* (Hymenoptera: Apidae) em um sistema agroflorestal da Amazonia. *Bioscience Journal*, Universidade Federal de Uberlandia, v 23 Sup 1: 94-99.

CONCEJO MUNICIPAL DE MIRAFLORES. 2008. Plan de Desarrollo Municipal "Miraflores campo de tod@s periodo 2008-2011 Alcaldía Municipal de Miraflores.

CORDEIRO G.D., PINHEIRO M., ALVES-DOS-SANTOS I. 2013. Polinizadores e sucesso reprodutivo de *Campomanesia Phaea* (MYRTACEAE). 64º Congresso Nacional de Botânica. Belo Horizonte, 10-15 de Novembro de 2013.

CORTOPASSI-LAURINO M. 2004. Seasonal strategies of harvesting by *Melipona* sp. in the Amazon region. In: Proceedings of the 8th IBRA International Conference on Tropical Bees and VI Encontro sobre Abelhas. Riberão Preto (SP), Brazil, p 258-263.

CRUDEN R.W. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31: 32-46.

CRUZ M.P. 2014. Protocolo de aprovechamiento de la chamba (*Campomanesia lineatifolia*) en San Eduardo, Boyacá. Pp. 89-106. *En*: Torres, M.C. y L. Casas (Eds.). Protocolos de aprovechamiento para flora silvestre no maderable. Metodología, estudios de caso y recomendaciones técnicas. Fondo Biocomercio - Fundación Natura. Bogotá, D.C., Colombia. 141 p.

DELAPLANE K.S., MAYER D.F. 2000. Crop pollination by bees. CABI publishing. 352 pp.

FACCIUTO G.R. 2007. Auto-incompatibilidad de acción tardía e hibridación interespecífica en el género *Tabebuia* A.I. Gomes ex DC (Bignoniaceae): estudios relacionados con el desarrollo reproductivo. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Buenos Aires. 173 p.

FIDALGO A.O; KLEINERT A.M. 2007. Foraging behavior of *Melipona rufiventris* Lepeletier (Apinae; Meliponini) in Ubatuba, SP, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 67(1): 133-140.

FRANKIE G.W., HABER W.A., OPLER P. A., BAWA K.S. 1983. Characteristics and organization of the large bee pollination system in the Costa Rican dry forest. p. 441-447 in C. E. Jones & R. J. Little (Eds) *Hand book of Experimental Pollination Biology*. Reinhold Company. New York. 558 p.

FREE J.B. 1993. *Insect pollination of crops*. Academic Press, London-New York. 768 pp.

GENTRY A.H. 1974. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica* 6: 64-68.

GUITIAN J. 1993. Why *Prunus mahaleb* (Rosaceae) produce more flowers than fruits. *American Journal of Botany* 80: 1305-1309

HILÁRIO S.D., GIMENES M., IMPERATRIZ-FONSECA V.L. 2003. The influence of colony size in diel rhythms of flight activity of *Melipona bicolor* Lepageletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). In: *Apoidea Neotropica* (Mello GAR and Alvesdos- Santos I, eds.) Editora UNESC, Criciúma. 191-197.

INSTITUTO COLOMBIANO DE BIENESTAR FAMILIAR ICBF. 1978. Tabla de Composición de Alimentos Colombianos - Instituto Colombiano de Bienestar Familiar - Ministerio de Salud Pública, Bogotá 4 ed. 95p.

JACQUEMART A.L. 2007. Methods for determining compatibility and pollinator efficiency in temperate fruit species. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*; 1:26–38.

KAWASAKI M.L. 1989. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Myrtaceae. *Bol. Bot. Univ. Sao Paulo* 11: 121-170)

KEARNS C.A., INOUE D.W. 1993. *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado. 583 p.

KIRKMAN T.W. 1996 *Statistics to Use*. [Citado 9 Octubre 2014]. Disponible en: <http://www.physics.csbsju.edu/stats/>

KLEIN A.M. VAISSIERE B.E., CANE J.H., STEFFAN-DEWENTER I., CUNNINGHAM S.A., KREMEN C., TSCHARNTKE T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 274 (1608), 303–313.

LANDRUM L. 1986. *Campomanesia, Pimenta, Blepharocalyx, Legrandia, Acca, Myrrhinium, and Luma* (Myrtaceae). *Flora Neotrop. Monogr.* 45:1-179.

LÓPEZ M., RODRÍGUEZ J. 1995. Diagnóstico del mercadeo de la champa en el Municipio de Miraflores Boyacá. Trabajo de grado para optar al título de Tecnólogo en

Mercadeo. Instituto de Educación Abierta y a distancia. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja. 86 p.

LUGHADHA E. N., PROENCA C. 1996. A survey of the Reproductive Biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 83(4): 480- 503

MCDONALD J.H. 2014. *Handbook of Biological Statistics* (3rd ed.). Sparky House Publishing, Baltimore, Maryland. <http://www.biostathandbook.com/fishers.html> (25 de octubre de 2014).

MADALOSSO R.C, OLIVEIRA G.C, MARTINS M.T, VIEIRA A.E.D, BARBOSA J, CALIARI M.V, CASTILHO R.O, TAGLIATI C.A. 2012. *Campomanesia lineatifolia* Ruiz & Pav. as a gastroprotective agent. *Journal of Ethnopharmacology* 139: 772- 779

MARTIN, F.W. 1959. Staining and observing pollen tubes by means of fluorescence. *Stain Technology* 34:125-128.

NATES-PARRA G., RODRÍGUEZ-C. Á. 2011. Forrajeo en colonias de *Melipona eburnea* (Hymenoptera: Apidae) en el piedemonte llanero (Meta, Colombia). *Revista Colombiana de Entomología*, 2011, vol.37, n. 1. 121-127.

OBREGÓN D., NATES-PARRA G. 2014. Floral Preference of *Melipona eburnea* Friese (Hymenoptera: Apidae) in a Colombian Andean Region. *Neotrop Entomol* (2014) 43:53–60.

OSBORN N.M., KEVAN P.G., LANE M. 1988. Pollination biology of *Opuntia polyacantha* and *Opuntia phaeacantha* (Cactaceae) in southern Colorado. *Plant Systematics and Evolution* 159: 85-94.

OSORIO C., M. ALARCÓN MORENO C., BONILLA A., BARRIOS J., GARZÓN C., DUQUE C. 2006. Characterization of Odor-Active Volatiles in Champa (*Campomanesia lineatifolia* R. & P.). *J. Agric. Food Chem.* 54 (2): 509–516.

PARRA-O. C. 2014. Sinopsis de la familia Myrtaceae y clave para la identificación de los géneros nativos e introducidos en Colombia Carlos Parra-O. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 38(148):261-77.

PIERROT L.M., SCHLINDWEIN C. 2003 Variation in daily flight activity and foraging patterns in colonies of urucu-*Melipona scutellaris* Latreille (Apidae, Meliponini). Revista Brasileira de Zoologia 20(4): 565-571.

PROENÇA C. 1992. Buzz pollination - older and more widespread than we think? Journal of Tropical Ecology 8: 115-120.

PROENÇA C., GIBBS P.E. 1994. Reproductive biology of eight sympatric Myrtaceae from Central Brazil. New Phytol., 126: 343-354.

SEAVEY S.R., BAWA K.S. 1986. Late-acting self incompatibility. Botanical Review 52 196-217.

SOUZA B.A., CARVALHO C.A., ALVES R.M. 2006. Flight activity of *Melipona asilvai* Moure (Hymenoptera: Apidae). Brazilian Journal of Biology 66 (2B): 731-737.

TOREZAN-SILINGARDI H. M., DEL CLARO K. 1998. Behavior of visitors and reproductive biology of *Campomanesia pubescens* (Myrtaceae) in cerrado vegetation. Ciencia e Cultura. 50(4): 281- 283.

TRISTÃO R.A. 2009. Biología Reprodutiva de *Campomanesia Pubecens* Mart. (Myrtaceae) uma Especie Arbustiva dos Cerrados do Brasil e Sua Ocorrência no Parque Ecologico Quedas do Rio Bonito. Anais do III Congresso Latino Americano de Ecologia, 10 a 13 de Setembro de 2009, So Louren co – MG.

VILLACHICA H., 1996. Frutales y Hortalizas promisorios del Amazonas. Tratado de Cooperación Amazónica, Secretaría Pro Tempore, Lima, pp. 181-185.

WYK A. E. VAN., LOWREY T. K. 1988. Studies on the reproductive biology of *Eugenia* L. (Myrtaceae) in Souther Africa. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 25: 279- 293.

ZEISLER M., 1938. Über die Abgrenzung der eigentlichen Narbenfläche mit Hilfe von Reaktionen. - Beih. Bot. Zbl. A 58, 308-318.

2. Dependencia de la polinización por abejas por parte de la cholupa (*Passiflora maliformis* L.)

Las pasifloras son un grupo de plantas ampliamente distribuidas en la región tropical, de hábito predominantemente trepador, con 660 especies aproximadamente, agrupadas en 17 géneros de los cuales *Passiflora* es el más rico en especies (Vanderplank 1996). En Colombia se conocen 170 especies de este género (Ocampo 2013) de éstas el 34% son endémicas (Ocampo *et al.* 2007) y el 15 % amenazadas (Hernández & García 2006), están distribuidas en todo el país, pero ampliamente diversificadas en la región Andina (Ocampo *et al.* 2006). Muchas especies de Pasifloras son económicamente importantes como alimento, el 25 % posee fruto comestible (Ocampo *et al.* 2007), una de estas especies es *P. maliformis*, la Cholupa del Huila, objeto del presente estudio.

La cholupa se distribuye las Antillas, Colombia, Venezuela y Ecuador. En Colombia se encuentra entre los 0 y los 2.200 m de altitud, principalmente en los departamentos de Boyacá, Cundinamarca, Huila, Magdalena, Nariño, Tolima, y Valle del Cauca (Ocampo *et al.* 2007). Se cultiva en el norte del departamento del Huila (Durán & Méndez 2008), en los municipios de Rivera, Palermo, Gigante y Colombia (Rodríguez 2010). La cholupa presenta dos temporadas de alta oferta en el año, una entre marzo y abril y otra entre agosto y diciembre (Corporación de Abastos de Bogotá S.A. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, citados en Durán & Méndez 2008).

Es el único frutal con protección de denominación de origen en el país (Secretaría de Industria y Comercio mediante Resolución NO. 43536 de 2007), lo cual es de gran importancia, ya que genera un valor agregado y por ende una ventaja competitiva a nivel comercial de este producto, que podría traducirse en un mejor precio y en un reconocimiento que facilita el acceso mercados nacionales e internacionales.

Los aspectos de la biología floral y reproductiva de las especies del género *Passiflora* se han abordado en diversas oportunidades, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* es la especie más estudiada, la autoincompatibilidad ha sido reiteradamente documentada y la biología de la polinización ha sido estudiada por varios autores que destacan su estrecha interacción con abejas del género *Xylocopa* (Camillo 2003; Calle *et al.* 2010, Yamamoto *et al.* 2012, Silva *et al.* 2014). Para otras pasifloras como *P. edulis* f. *edulis* también se cuenta con estudios de biología floral y reproductiva (Ángel-Coca *et al.* 2011) e interacción con sus visitantes (Medina *et al.* 2012) en los que se encontró que pese a ser una especie autocompatible necesita de agentes que transfieran el polen y sus polinizadores efectivos son principalmente las abejas *Xylocopa frontalis*, *X. lachnea*, *Epicharis* sp. y *Apis mellifera*; para *Passiflora lutea* Holland & Lanza (2008) encontraron diferencias entre la biología de la polinización de plantas de localidades diferentes, *Passiflora suberosa*, estudiada por Amela-García (2008) presenta autogamia parcial pese a ser altamente autocompatible, y el éxito reproductivo es mayor con polinización inducida, lo cual da cuenta de la dependencia de agentes polinizadores.

El único trabajo de este enfoque con el que se cuenta para *P. maliformis* es el realizado por Henao (2014) en el que se concluyó que es una especie que requiere vectores de polen dada su condición alógama, preferentemente xenógama.

Los resultados de Henao (2014) y la presente investigación son complementarios y se realizaron con el fin de conocer detalles de la polinización de la cholupa en el municipio de Rivera – Huila, ya que se encontró que no hay estudios sobre el tema que puedan proveer información aplicable a la conservación de polinizadores del cultivo.

Según los datos obtenidos por Klein *et al.* (2007), la polinización animal es necesaria para el 35 % de los cultivos en el mundo, el 5% no se ha evaluado, aunque el 60 % de los cultivos no dependen de este tipo de polinización, se sabe que de las plantas que dependen de la polinización animal, también depende la seguridad alimentaria y que las principales especies polinizadoras corresponden a abejas (Delaplane & Mayer 2000, Free, 1993, Klein *et al.* 2007).

La dependencia de polinizadores según Klein *et al.* (2007) es la medida del nivel de impacto que tiene la polinización realizada por un vector animal sobre la productividad de determinada especie de planta. La dependencia de polinizadores puede ser *Esencial*, si la producción se reduce en un porcentaje ≥ 90 %, *Alta*, con una reducción de 40 a < 90

%, *Modesta*, si la reducción está entre 10 y < 40 %, *Baja*, si tiene una reducción de > 0 a < 10 %, y *Nula*, si no hay reducción en la producción. El conocimiento de la dependencia de polinización de un cultivo permite dar soporte a estrategias de sensibilización conservación y manejo en el sector productivo.

Para poder incorporar prácticas de manejo amigables con las abejas, que incluyan el tema de la polinización como elemento esencial para optimizar la producción, se hace necesario contar con información de base sobre la estrategia reproductiva de la flor, conocer la identidad y aspectos básicos de la biología de sus visitantes y potenciales polinizadores, saber qué porcentaje de la producción depende de la acción de estos organismos y que condiciones biológicas son importantes para mantener esta interacción.

El interés por trabajar con frutales nativos, de uso emergente, no muy extendido y con alto potencial de ser aprovechados, surge porque al obtener esta nueva información, se puede integrar a las técnicas de manejo que se estén implementando en el cultivo, como complemento a aspectos de manejo agronómico y fitosanitario.

El objetivo principal de este trabajo fue completar la información que se tiene sobre la biología reproductiva de la cholupa *Passiflora maliformis*, y tomarla como base en el estudio de la polinización por abejas, para así poder determinar en qué grado la cholupa depende de estos insectos para la producción de frutos.

2.1 Materiales y métodos

2.1.1 Área de estudio

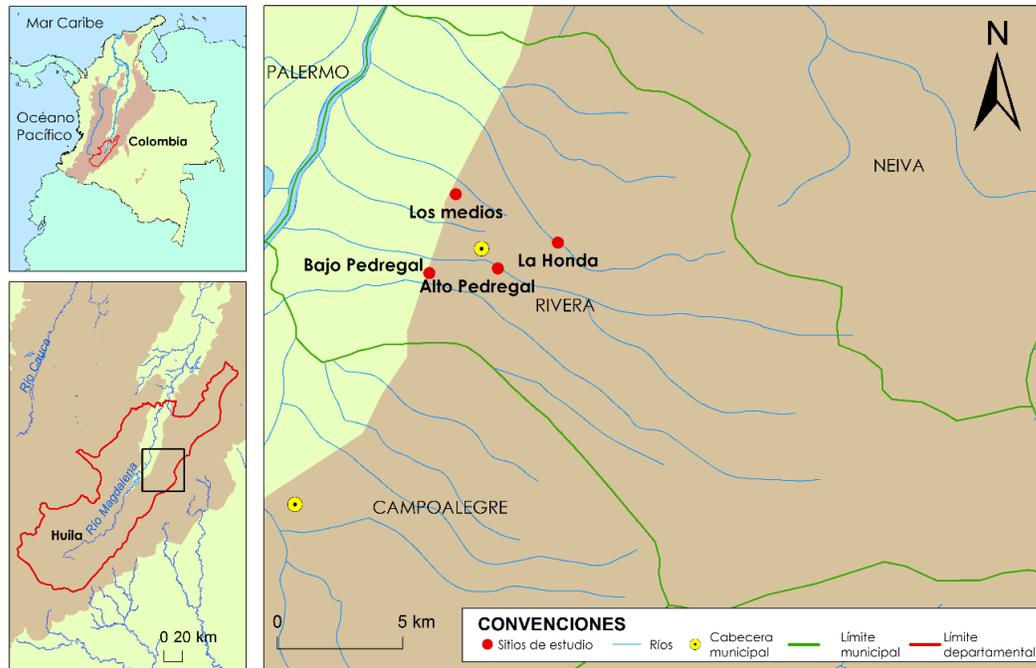
El estudio se llevó a cabo en cuatro veredas del municipio de Rivera-Huila. En la Tabla 2-1 se presenta la información general de cada cultivo.

Tabla 2-1 Puntos de estudio de la polinización de *P. maliformis*

Cultivo	Vereda	Latitud	Longitud	Altura en m	Propietario
1	La Honda	2.7804	-75.2286	859	Huber Rodríguez
2	Bajo Pedregal	2,76943	-75,27492	625	Ramiro Perdomo
3	Alto Pedregal	2.7711	-75.2502	784	Carlos Tovar
4	Los medios	2.7978	-75.2653	658	Juan Gabriel Gasca

Los puntos de estudio se ilustran en la Figura 2-1., se encuentran ubicados al noroccidente del municipio de Rivera, se encuentran en una zona de clima cálido seco, con altitud menor a 1.000 msnm, que se caracteriza por tener una temperatura entre 25 y 28°C y una precipitación promedio anual entre 1.500 – 1.600 mm (Alcaldía Municipal de Rivera Huila 1999).

Figura 2-1 Contexto geográfico de los puntos de muestreo para la cholupa



2.1.2 Biología reproductiva

Se realizó la estimación de la relación polen/óvulo y el cálculo del índice de xenogamia según la propuesta de Cruden (1977). Estos procedimientos complementaron los resultados obtenidos en los experimentos de polinización controlada realizados en campo.

▪ Relación polen-óvulo

Para el conteo de óvulos se utilizaron 10 ovarios procedentes de botones próximos a abrir y de diferentes plantas. Cada ovario se colocó en una caja de Petri, se realizó una disección para remover los óvulos y se agregó agua para facilitar la separación. Posteriormente se realizó el conteo total de óvulos en cada ovario.

De las mismas flores empleadas para el conteo de óvulos se tomó una teca de las anteras, cada teca se colocó en 500 μ l de KOH 10% al baño maría para digerir el tejido de la antera, se hicieron 6 montajes de 20 μ l de esta suspensión en láminas portaobjetos y se contaron todos los granos de polen en el microscopio óptico. Para estimar el número de granos de polen por flor se calculó el promedio para 20 μ l, luego se hizo la extrapolación para 500 μ l, se multiplicó este valor por 2 porque cada antera posee dos tecas y finalmente se multiplicó por el número de anteras de la flor.

Según la escala propuesta por Cruden (1977) una planta puede tener los siguientes sistemas reproductivos: Cleistogamia ($P/O=4.7 \pm 0.7$), Autogamia obligada ($P/O= 27.7 \pm 3.1$), Autogamia facultativa ($P/O= 168.5 \pm 22.1$), Xenogamia facultativa ($P/O= 796.6 \pm 87.7$) o Xenogamia ($P/O= 5859.2 \pm 936.5$).

▪ Índice de xenogamia

Con base en las observaciones realizadas en campo se asignaron valores a las siguientes características florales: diámetro, separación temporal de funciones reproductivas, separación espacial de anteras y estigma. La asignación se efectuó de acuerdo a los siguientes valores sugeridos por Cruden (1977):

Diámetro de la flor: menos de 1 mm =0; 1-2 mm =1; 2-6 mm =2; >6 mm =3. *Separación temporal de la dehiscencia de la antera y la receptividad estigmática:* homogamia o protoginia = 0; protandria =1; *Posición de anteras y estigma:* igual nivel= 0; espacialmente separadas= 1. La sumatoria de los valores proporcionó el índice para la especie.

▪ Sistema reproductivo

Con base en los resultados encontrados por Henao (2014), que mostraron a partir del análisis de formación de tubos polínicos y retención inicial de frutos que la cholupa es una especie estrictamente alógama, de preferencia xenógama dependiente de vectores animales activos que transporten su polen entre diferentes flores, se realizaron ensayos complementarios para corroborar la información de la estrategia reproductiva de la planta a partir de medida de retención final y de las características de los frutos formados.

Durante las floraciones de agosto de 2013 y abril de 2014, en el predio de la vereda Bajo Pedregal, se marcaron botones próximos a abrir y se realizaron experimentos de polinización controlada:

Autopolinización espontánea, se marcaron y embolsaron los botones para comprobar si hay polinización con polen de la misma flor.

Geitonogamia, se marcaron botones y al momento de la antesis se emascularon las flores y se polinizaron con polen de otras flores de la misma planta y se embolsaron posteriormente para determinar si hay autocompatibilidad.

Xenogamia, para determinar si se presenta polinización cruzada las flores asignadas a esta prueba se polinizaron manualmente con polen proveniente de mínimo 3 plantas donantes diferentes a la evaluada, después de la polinización las flores fueron emasculadas y embolsadas.

Control: las flores asignadas a esta prueba se marcaron y se dejaron expuestas a la polinización abierta.

Las polinizaciones manuales se realizaron cuando las flores (tanto donantes como receptoras de polen) mostraban las características de la fase floral con mayor receptividad y viabilidad de polen, es decir apertura floral completa, anteras horizontales, con el polen expuesto hacia el exterior y estigmas horizontales con respecto al disco floral según Henao (2014).

El número de flores empleado en cada ensayo se presenta en la Tabla 2-2. Después de la apertura floral se realizaron dos revisiones, la primera aproximadamente a los 30 días, tiempo en el cual ya se presenta el cuajamiento de frutos y otra aproximadamente a los 60 días, durante ésta última, que corresponde al período de cosecha, se recogieron los frutos y se les tomó la siguiente información: diámetro polar, diámetro ecuatorial, peso total, peso pulpa + semillas, número de semillas maduras, número de semillas inmaduras, peso promedio de semillas maduras, alto promedio de semillas, ancho promedio de semillas y grosor promedio de semillas.

2.1.3 Polinizadores

▪ Tasa de visitas y diversidad de visitantes

Para conocer la composición y diversidad de la comunidad de abejas visitantes de la cholupa se realizaron cuatro a cinco jornadas de observaciones y muestreos en cada cultivo, las jornadas se hicieron entre las 6 h hasta las 16 h, dependiendo de la hora de apertura y cierre de las flores.

En cada jornada, cada hora, durante 15 minutos, se realizó un recorrido aleatorio por el cultivo en el que registró la presencia, el tipo de visitante y recurso recolectado en la flor. Con los datos obtenidos tanto en las observaciones de tasa de visitas como en los muestreos de diversidad se realizó la descripción de la actividad de las abejas en las flores en las diferentes horas del día.

Simultáneamente a la observación de visitas se marcaron 100 flores al inicio de cada jornada, y cada hora se registró el grado de remoción de polen de las anteras de cada una, para evidenciar la actividad de forrajeo de polen por las abejas, ésta característica es fácilmente observable, las categorías que se usaron fueron, nula (0% del polen removido), baja (< 20% el polen removido), media (aproximadamente el 50 % del polen removido) y alta (>70%), también se tomó el dato de apertura y cierre de la flor.

En las mismas jornadas de observación de tasa de visitas, y en los mismos intervalos de tiempo, se realizaron muestreos de los visitantes florales. Cada muestreo tuvo una duración de 10 minutos y los ejemplares fueron recolectados con frascos limpios en el momento en que se retiraban de la flor, en algunas ocasiones se utilizó jama para facilitar el trabajo. Durante los muestreos se registró la temperatura y la humedad relativa. Las abejas recolectadas se anestesiaban con hielo para tomar muestras de polen de contacto, las abejas de identidad conocida fueron liberadas después del muestreo y las abejas de identidad no conocida se sacrificaron en cámara letal de cianuro para ser procesadas e ingresadas a la colección del Laboratorio de investigaciones en abejas de la Universidad Nacional de Colombia LABUN, la determinación de los ejemplares se realizó mediante el uso de claves (Bonilla-Gómez & Nates-Parra 1992; Nates-Parra y Fernández 1992; Silveira *et al.* 2002 y Vélez 2012), mediante la consulta a especialistas y comparación con ejemplares de la colección de abejas del LABUN.

Para el análisis de la diversidad de visitantes de la cholupa en los cuatro cultivos, se calcularon los siguientes índices con el programa Past (Hammer *et al.* 2001):

- Dominancia ($D=1-\text{Índice de Simpson}$)
- Uniformidad ($\text{Índice de Simpson}=1-D$)
- Diversidad ($\text{Índice de Shannon } H$)
- Equitabilidad ($H/\ln\#\text{especies}$)

▪ **Polen de contacto**

Durante las jornadas de muestreo para diversidad de visitantes se recolectó el polen de contacto con gelatina glicerinada teñida con fuchsina, en viales limpios para su posterior análisis en microscopio óptico. A los ejemplares de más de 1 cm de longitud corporal, se les retiró polen de la cabeza, parte dorsal del tórax, parte ventral del tórax, sección distal del abdomen y patas posteriores.

En el laboratorio y bajo microscopio óptico se realizaron conteos del número de granos en treinta campos ópticos aleatorios y distantes en cada muestra, los granos se clasificaron en granos de *P. maliformis* y otros granos, con el fin de determinar el aporte de cada tipo de visitante y regiones corporales en el transporte de polen disponible para polinizar; además los datos obtenidos en esta sección se tuvieron en cuenta para el cálculo de la importancia relativa de polinizadores que se explica más adelante.

▪ **Identificación de potenciales polinizadores**

Con base en los datos obtenidos en los muestreos de diversidad de abejas visitantes de flores de cholupa, los resultados de polen de contacto y las observaciones de comportamiento se realizó la estimación de la importancia relativa de polinizadores por medio del cálculo del índice de importancia de polinización (PII) propuesto por Escaravage & Wagner (2003) con base en el Índice (PIV) propuesto por Lindsey (1984), para las especies de abejas visitantes presentes en los cuatro cultivos y de mayor frecuencia de aparición, con la fórmula:

$$\text{PII} = \text{PIV} / \sum \text{PIV} \times 100; \quad \text{PIV} = \text{VR} \times \text{PCC} \times \text{C} \times \text{PE}$$

Donde:

VR = Tasa de visitas por visitante (porcentaje de aparición de la especie en el total de los muestreos de los cuatro cultivos)

PCC= Proporción relativa de polen de *P. maliformis* transportada por cada especie del total de polen de *P. maliformis* llevado por todos los visitantes

C= Constancia de cada visitante expresada como la proporción relativa de polen de cholupa en su cuerpo

PE= Efectividad de polinización en un rango de 0 a 1 teniendo en cuenta:

Tamaño de la abeja, dependiendo de la longitud corporal, se asigna más valor a las abejas de mayor tamaño ya que esta característica determina el que la abeja toque las partes reproductivas de la flor al entrar y salir y puede estar asociado con el rango de forrajeo, entre más tamaño, más posibilidades de que transporte polen de un cultivo a otro y promueva la polinización cruzada. Otro criterio que se tuvo en cuenta fue la

sincronía con la flor, se asignó más valor a las especies que presentan picos de actividad que coinciden con la fase de mayor despliegue floral, presenta la mayor receptividad estigmática y viabilidad polínica y a la vez el néctar con mayor concentración de carbohidratos y que se presenta entre las 8:50 h y 13:00 h aproximadamente.

▪ **Visitas controladas**

Adicionalmente a los ensayos de polinización se hicieron 172 ensayos de visitas únicas (botones florales que fueron expuestos a una única visita) y 150 de visitas múltiples (botones florales que fueron expuestos a más de una visita), se añadió la categoría “visitas combinadas” que significa que dos o más visitantes, de identidad diferente, acuden a la flor en busca de recursos, de éstas se realizaron 30 ensayos, las visitas múltiples se restringen a los casos en los que más de una abeja, sin importar la identidad, visitan las flores y todas las visitas son por el mismo recurso (néctar o polen).

Para estas pruebas se marcaron botones florales próximos a abrir, se embolsaron y durante la fase de mayor apertura floral se expusieron a las visitas. Después del suceso se emascularon y se embolsaron nuevamente. Dado que es muy difícil que abejas diferentes a *Apis mellifera* visiten precisamente las flores dispuestas para las pruebas, se hicieron recorridos en las primeras horas de la mañana cuando la remoción de polen es nula o baja y se marcaron flores en las que se observaron visitas de estas abejas.

Tanto para los ensayos de visitas únicas como para los de visitas múltiples se realizaron dos revisiones, la primera aproximadamente a los 30 días para verificar la retención inicial y una segunda revisión (retención final) a los 60 días, en la cual se recolectaron los frutos disponibles y se les midió: diámetro polar, diámetro ecuatorial, peso total, peso de la pulpa con semillas, número de semillas maduras, número de semillas inmaduras, peso promedio de semillas maduras, alto promedio de semillas, ancho promedio de semillas y grosor promedio de semillas.

2.1.4 Dependencia de polinizadores

Con base en los experimentos de polinización y los de visitas controladas se determinó la dependencia de polinizadores según la clasificación propuesta por Klein *et al.* (2007), el porcentaje se calculó con base en la reducción en la producción de frutos, teniendo en

cuenta la diferencia entre los tratamientos control (en el que se dejaron las flores expuestas a la polinización natural) y los resultados de flores que se excluyeron con el embolsamiento.

2.1.5 Análisis de datos

Para la relación polen/óvulo se calcularon estadísticos descriptivos (Promedio y desviación estándar).

Las pruebas estadísticas se realizaron con el software STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.

Para las pruebas del sistema reproductivo se detectaron diferencias entre la retención inicial y final de los frutos por medio de una prueba de χ^2 usando la herramienta de Kirkman (1996). Las diferencias entre las características de frutos formados a partir de los diferentes tratamientos de polinización se compararon con la prueba de Kruskal Wallis.

La correlación entre el comportamiento de forrajeo y la actividad de los visitantes se evaluó mediante una correlación de Spearman (no paramétrica) entre T° y HR con la actividad de los visitantes de cholupa.

Para los datos de polen de contacto se realizaron comparaciones entre la cantidad total de polen transportado por las especies con más de 5 muestras, para lo cual se utilizó un análisis de varianza de una vía seguida para comparar la cantidad de polen transportado disponible para polinizar. La variable se transformó con $\log x+0,5$ para mejorar la normalidad y homogeneidad de varianza. Y para identificar las especies que difieren y/o que son similares se realizaron comparaciones múltiples con la prueba de Tukey-Kramer.

El número de frutos formados a partir de visitas únicas y múltiples de las diferentes especies se evaluó por medio de la prueba de χ^2 .

2.2 Resultados

2.2.1 Biología reproductiva

▪ Relación polen-óvulo

Se encontró que una flor de cholupa tiene en promedio 106.372 ± 40.571 granos de polen y $626,7 \pm 84,7$ óvulos. La relación polen/óvulo es de 175 ± 77 , es decir de acuerdo al sistema reproductivo es autógama facultativa según Cruden (1977).

▪ Índice de xenogamia

Con los datos obtenidos por Henao (2014) y observaciones realizadas en campo se calculó el índice de xenogamia de *P. maliformis*:

Diámetro de la flor: $>6 \text{ mm} = 3$. *Separación temporal de la dehiscencia de la antera y la receptividad estigmática*: homogamia o protoginia = 1; *Posición de anteras y estigma*: igual nivel = 0.

El índice es igual a 4, por lo cual se clasifica como parcialmente auto-compatible, con polinización cruzada y demanda por polinizadores.

▪ Sistema reproductivo

Para efectos de las comparaciones entre tratamientos no se incluyó el de geitonogamia ya que no se formaron frutos a partir de éste. Aunque se presentan también los resultados de las visitas controladas en las tablas, éstos se describirán más adelante, en la sección de polinizadores.

▪ Formación de frutos

Para detectar diferencias entre la retención inicial y final de los frutos se utilizó una prueba de χ^2 usando la herramienta de Kirkman (1996), con esta prueba se detectaron diferencias significativas en la retención inicial ($\chi^2 = 118,0$; gl= 5; P= 0,000) y en la retención final ($\chi^2 = 124,0$; gl= 5; P= 0,000); por lo cual se realizaron comparaciones múltiples entre pares de tratamientos por medio del test exacto de Fisher (McDonald 2014), con corrección de Bonferroni ($\alpha/K=0,05/15$ comparaciones=0,003). Para rechazar que no hay diferencias entre las dos categorías comparadas el valor P deber ser menor de 0,003

Tabla 2-2 Comparación entre tratamientos de biología reproductiva y ensayos de visitas por comparaciones múltiples entre pares de tratamientos por medio del test exacto de Fisher.

Tratamiento	Flores	Frutos finales	Retención inicial	Retención final
Autopolinización espontánea	55	4	9,1	7,3c
Geitonogamia	32	0	0,0	0,0
Xenogamia	30	23	80,0	76,7a
Control	49	16	42,9	32,7b
Visita única*	172	16	57,6	9,3bc
Visita múltiple*	150	9	17,3	6,0c
Visita combinada*	30	2	83,3	6,7c

*No corresponden a tratamientos de biología reproductiva, ya que pueden producir apareamientos por autogamia, geitonogamia, o xenogamia, sin embargo se incluyen para comparar los resultados con los tratamientos efectuados y brindar soporte la discusión que se presenta más adelante.

En la tabla 2-2 se presentan los resultados de las comparaciones múltiples, los valores marcados con la misma letra en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Kruskal Wallis, comparaciones múltiples de rangos medios, $p < 0,05$). No hubo formación de frutos con el tratamiento de geitonogamia, los tratamientos de autopolinización espontánea, xenogamia y control fueron diferentes entre sí y estos dos últimos fueron los que produjeron mayor cantidad de frutos.

- *Características de los frutos*

La comparación entre las principales características obtenidas se presentan en la Tabla 2-3, los valores marcados con la misma letra en la misma columna de la localidad no son estadísticamente diferentes (Kruskal Wallis, comparaciones múltiples de rangos medios, $p < 0,05$). Se omitió la información de visita combinada pues solamente se obtuvieron dos datos.

Tabla 2-3 Comparación de los resultados obtenidos para las características de frutos resultantes de los tratamientos de polinización y ensayos de visitas.

Tratamiento	Diámetro Polar	Diámetro ecuatorial	Peso total	Peso pulpa + semillas	No. Semillas maduras	Peso semillas	Alto semillas	Ancho semillas	Grosor semillas
Autopolinización espontánea	61,5± 3,7	61,5 ±3,8	80,8± 13,8 ab	34,8± 10,7 ab	316,3± 168,4 ab	0,014± 0,001	4,6± 0,3	3,60± 0,2	1,2± 0,07
Control	60,0± 5,3	54,6 ±4,7	54,1± 17,9 ab	21,2± 13,8 ab	122,7± 43,4 ab	0,015± 0,003	4,8± 0,3	3,6± 0,2	1,3± 0,04
Visita combinada*	51,0± 4,4	46,4 ±3,2	40,2± 10,4	17,2± 8,8	144,0± 86,3	0,011± 0,001	4,6± 0,3	4,6± 0,3	4,6± 0,32
Visita múltiple*	60,9± 8,3	54,8 ±6,1	62,9± 21,2 ab	24,0± 14,0 ab	198,4± 174,5 ab	0,016± 0,003	4,9± 0,4	3,8± 0,2	1,3± 0,06
Visita única*	60,9± 11,4	53,0 ±9,5	59,9± 40,1b	24,5± 21,5 b	196,8± 201,0 b	0,013± 0,002	4,7± 0,3	4,6± 0,5	4,1± 1,44
Xenogamia	68,5± 5,5	63,8 ±3,9	95,5± 21,1a	40,3± 13,4 a	359,8± 122,7 a	0,014± 0,002	4,6± 0,2	3,6± 0,3	1,3± 0,03

*No corresponden a tratamientos de biología reproductiva, ya que pueden producir apareamientos por autogamia, geitonogamia, o xenogamia, sin embargo se incluyen para comparar los resultados con los tratamientos efectuados y brindar soporte la discusión que se presenta más adelante.

Se encontraron diferencias significativas en el peso total de los frutos obtenidos con los tratamientos autopolinización espontánea, control, visita múltiple, visita única, xenogamia (Kruskal-Wallis=27,774; gl=4; $P=0,000$). Los frutos más pesados se obtuvieron con el tratamiento de xenogamia. Con respecto al peso de la pulpa se observa un comportamiento similar (Kruskal-Wallis=19,818; gl=4; $P=0,001$) y se repite la tendencia para el número de semillas (Kruskal-Wallis=28,964; gl=4; $P=0,000$).

2.2.2 Polinizadores

▪ Visitantes florales de la cholupa

Se registraron 2.453 visitas de abejas en los cuatro cultivos. En la tabla 4 se muestra la lista de abejas visitantes de la Cholupa, con el porcentaje de aparición en los muestreos de capturas para los cuatro cultivos.

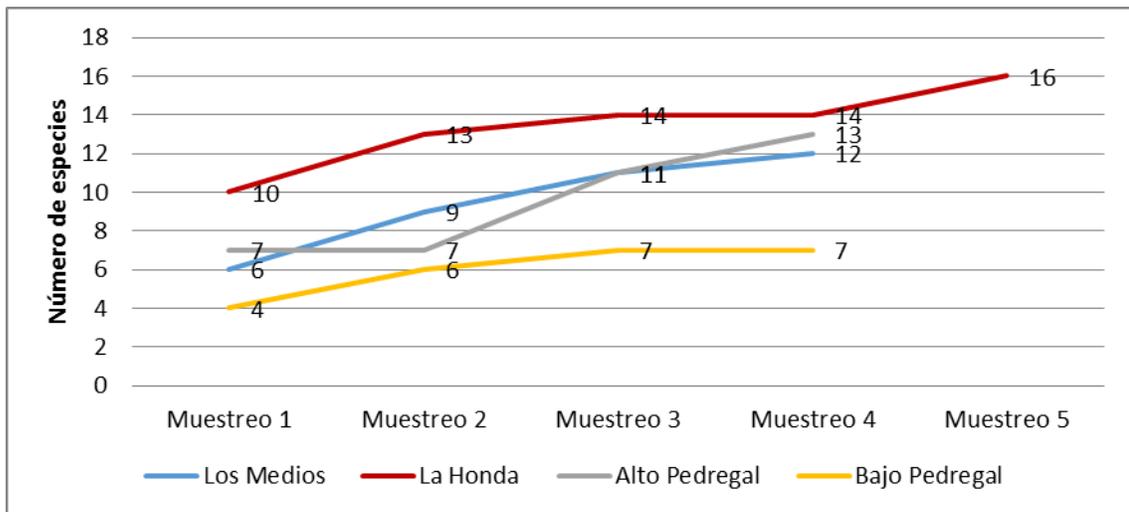
Tabla 2-4 Porcentaje de aparición de las diferentes especies de abejas visitantes de *P. maliformis*.

Espece de abeja	Los Medios	Bajo Pedregal	La Honda	Alto Pedregal	Total
<i>Apis mellifera</i>	73,71	98,13	74,83	67,88	87,53
<i>Centris (Melacentris) obsoleta</i>	0,00	0,00	0,22	0,00	0,04
<i>Centris flavifrons</i>	4,74	0,55	2,70	3,33	1,71
<i>Centris insignis</i>	0,86	0,07	1,80	0,30	0,49
<i>Centris vittata</i>	0,00	0,00	0,22	0,00	0,04
<i>Epicharis (Epicharana) sp.</i>	0,86	0,00	0,90	0,30	0,29
<i>Epicharis (Hoplepicharis) sp.</i>	0,00	0,00	0,22	0,00	0,04
Eucerini	0,43	0,00	1,12	2,12	0,53
<i>Euglossa (Euglossa) variabilis</i>	0,43	0,00	0,00	0,00	0,04
<i>Euglossa sp.</i>	0,00	0,07	0,00	0,00	0,04
<i>Eulaema cingulata</i>	3,88	0,21	3,60	1,21	1,30
<i>Eulaema nigrita</i>	6,90	0,69	5,84	1,21	2,28
<i>Eulaema polychroma</i>	3,02	0,00	3,15	1,21	1,02
<i>Halictidae / Augochlorini sp. 1</i>	0,00	0,00	0,00	0,30	0,04
<i>Halictidae / Augochlorini sp.2</i>	0,00	0,00	0,00	1,21	0,16
<i>Nannotrigona mellaria</i>	1,29	0,00	2,02	6,97	1,43
<i>Scaptotrigona sp.</i>	0,00	0,00	0,22	0,00	0,04
<i>Tetragona sp.</i>	0,00	0,00	0,22	0,00	0,04
<i>Trigona fulviventris</i>	0,00	0,00	0,67	0,00	0,12
<i>Trigonisca sp.</i>	0,86	0,00	0,45	7,27	1,14
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) frontalis</i>	3,02	0,28	1,80	6,67	1,67
Total individuos observados	232	1446	445	330	2453

Apis mellifera es la especie que tiene mayor frecuencia de visita en los tres cultivos, en conjunto, esta especie tiene el 87,5 % de todas las visitas registradas. Le siguen en orden de frecuencia *Eulaema nigrita*, *Centris flavifrons* y *Xylocopa frontalis*.

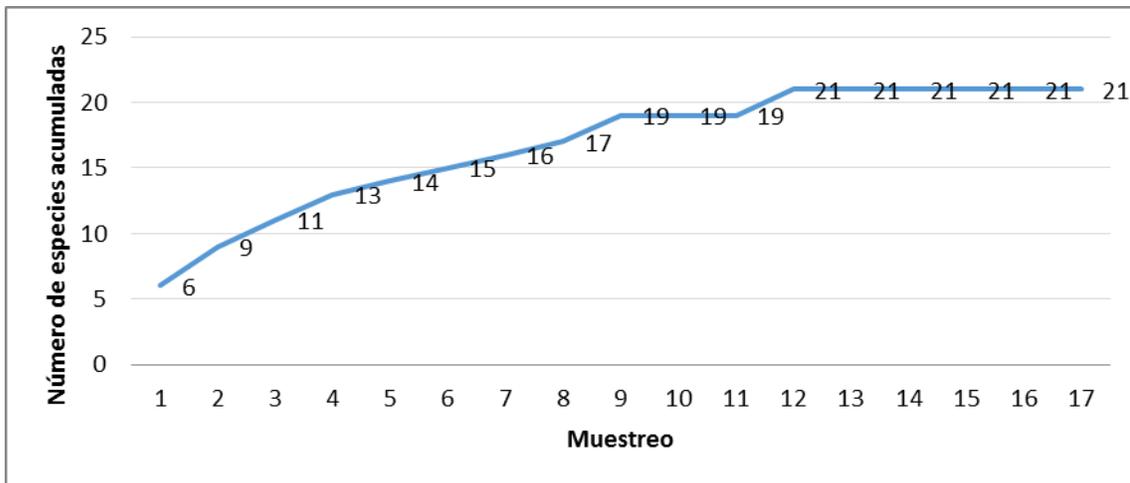
Las curvas de acumulación de especies elaboradas para cada predio (Figura 2-2), muestran una tasa de acumulación más baja en los muestreos finales con respecto a los muestreos iniciales, sin embargo aún no se muestran asintóticas.

Figura 2-2 Curvas de acumulación de especies por predio



Como el objetivo es conocer los principales polinizadores de la cholupa en la región, se hizo una curva de acumulación general (Figura 2-3), en la cual sí se observa una tendencia a la estabilización del valor de riqueza.

Figura 2-3 Curva de acumulación de especies general



▪ Actividad de forrajeo

Para facilitar la visualización del comportamiento de forrajeo de las diferentes especies de abejas a lo largo del día se presentan por grupos en la Figura 2-4.

En primer lugar se encuentran las abejas de la tribu Centridini, que son abejas con escopa, robustas, de más de 2 cm de longitud corporal y que visitan la cholupa únicamente por néctar. En este grupo la actividad es relativamente constante durante el día, para *Centris flavifrons* y *C. insignis*, que fueron las especies de este grupo con más visitas registradas, se presenta un descenso en las visitas después del mediodía.

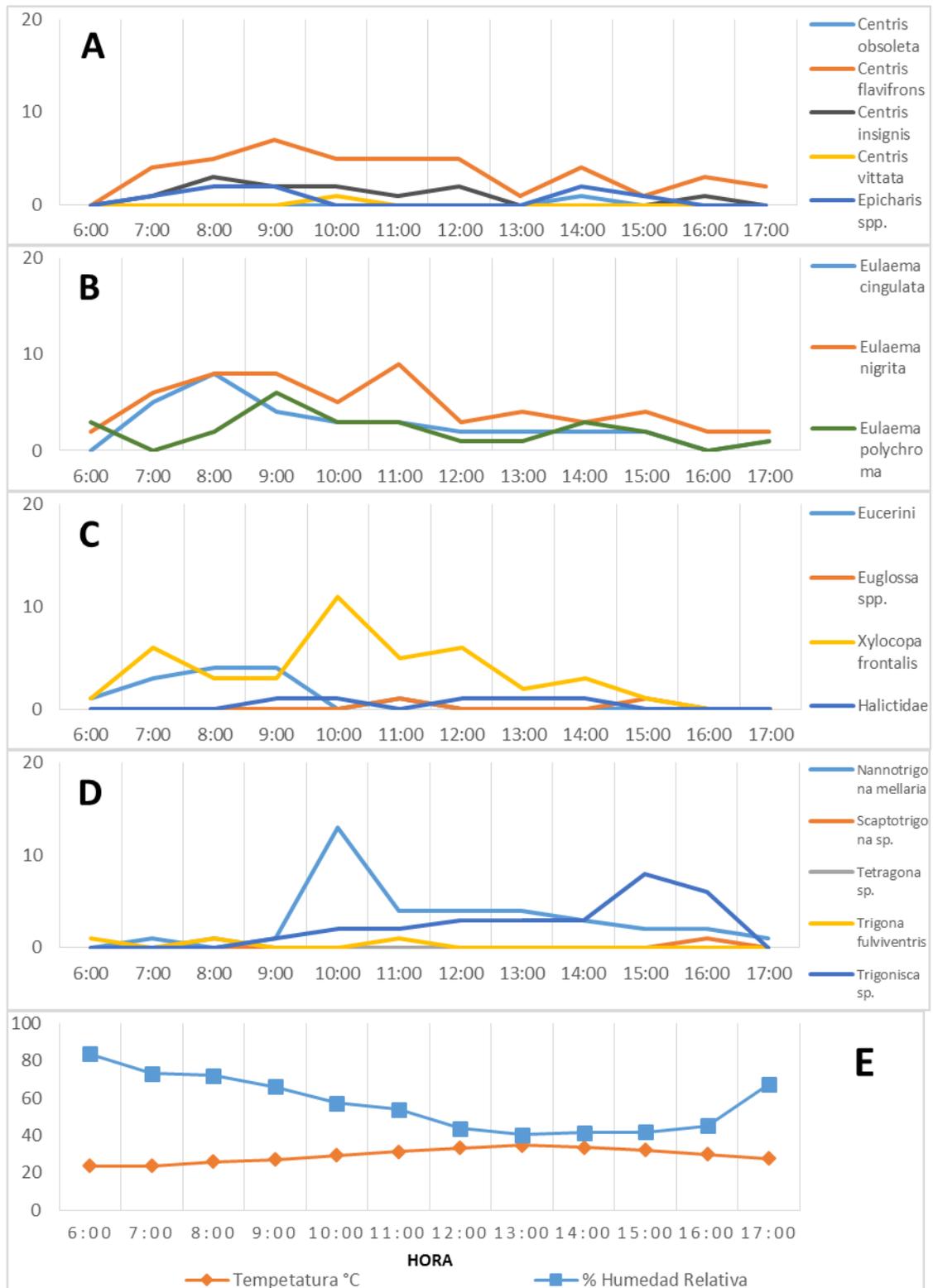
La segunda sección presenta las abejas de la tribu Euglossini correspondientes al género *Eulaema*, que son abejas de más de 2,5 cm de longitud corporal. Aunque no presentan un pico de actividad notable, para *E. nigrita* y *E. cingulata* presentan mayor actividad entre las 8 y la 11 de la mañana.

En la sección C, se puede observar un grupo heterogéneo compuesto por especies de Apidae de las tribus Eucerini, una morfoespecie de tamaño medio (1,5 cm de largo), abejas del género *Euglossa* y *Xylocopa frontalis*, además de dos especies de halictidos de la tribu Augochlorini de tamaño mediano. En este grupo sobresale *X. frontalis* con un pico de actividad hacia las 10 de la mañana. Es importante aclarar que en este grupo solamente las abejas del género *Euglossa* forrajean por polen, las demás buscan néctar como único recurso en la cholupa.

El apartado D de la figura muestra las abejas de la tribu Meliponini, que son abejas de tamaño pequeño (entre 0,5 y 1 cm de longitud corporal). El caso más llamativo en este grupo es el de *Nannotrigona mellaria*, que presenta un pico de actividad a las 10 de la mañana. Estas abejas forrajean en las flores de cholupa tanto por polen como por néctar.

En la sección E de la Figura 2-4 se presenta el patrón promedio del comportamiento de la temperatura y la humedad durante los días de muestreo. Se observa un descenso de humedad y aumento de temperatura hacia las 13:00 h que podría estar determinando el comportamiento de forrajeo de los visitantes florales, para verificar este comportamiento se efectuó una correlación de Spearman (no paramétrica) para analizar la relación entre T° y HR con la actividad de los visitantes de Cholupa.

Figura 2-4 Comportamiento de forrajeo de los diferentes grupos de abejas nativas en cholupa. A. Centridini; B. Euglossini C. Otros Apidae D. Meliponini E. Temperatura y Humedad relativa promedio.



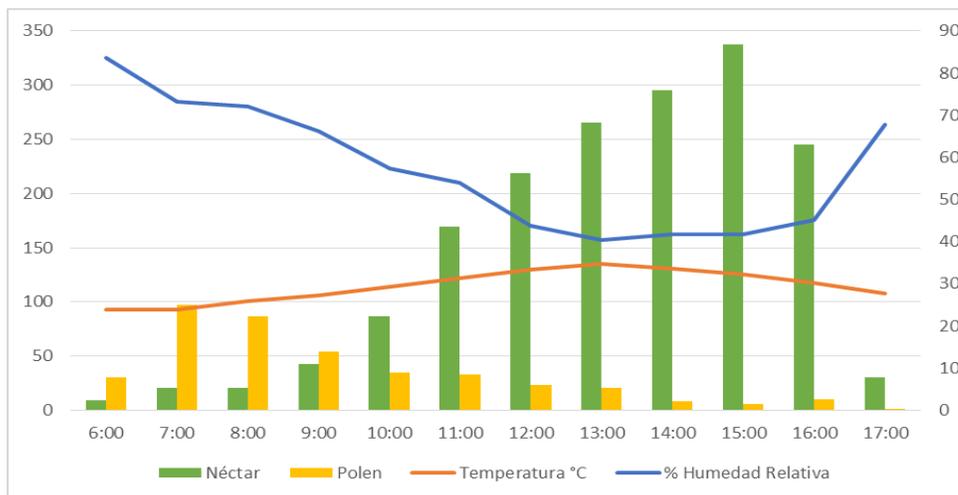
No obstante, según los datos que se presentan en la Tabla 2-5 ninguna especie muestra una correlación fuerte ($>0,6$) con las variables ambientales. Hay una correlación negativa moderada de *Nannotrigona mellaria* y *Trigonisca* sp. con la humedad. Hay una correlación negativa moderada a débil de *E. cingulata* con la temperatura. Hay una correlación negativa débil de *E. nigrita* y *A. mellifera* con la humedad ($r_s=-0,310333$; $p<0,05$).

Tabla 2-5 Correlación de Spearman entre el número de visitas y las variables Temperatura y Humedad relativa.

Visitante	T°	HR
<i>Apis mellifera</i>	0,085354	-0,310333
<i>Centris flavifrons</i>	-0,050844	-0,133109
Eucerini	0,043671	-0,438248
<i>Eulaema cingulata</i>	-0,406055	0,144156
<i>Eulaema nigrita</i>	0,264374	-0,292683
<i>Eulaema polychroma</i>	-0,177560	-0,219587
<i>Nannotrigona mellaria</i>	0,167301	-0,536973
<i>Trigonisca</i> sp.	-0,032644	-0,514790
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) frontalis</i>	-0,001588	-0,122289

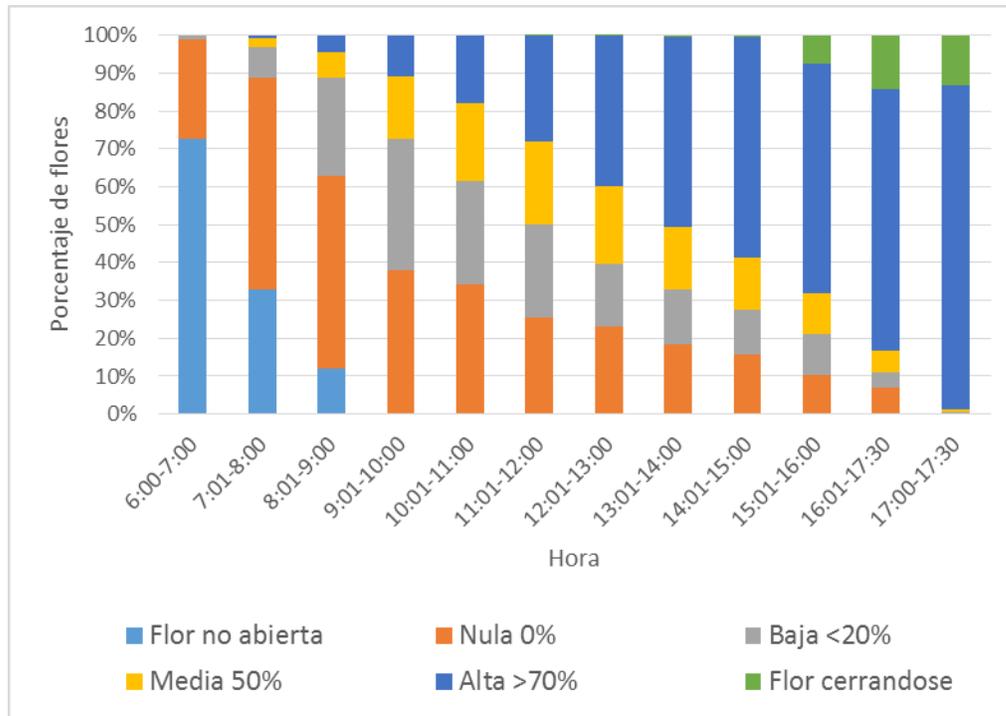
Dado que *A. mellifera* es el visitante más asiduo de la cholupa, se presentan los datos diferenciados en visitas por polen y visitas por néctar en la Figura 2-5. Se observa claramente un pico de actividad por polen entre las 7h y las 8h de la mañana y un pico de forrajeo por néctar hacia las 3 de la tarde.

Figura 2-5 Comportamiento de forrajeo de *A. mellifera* a lo largo del día.



Con los datos de remoción obtenidos de todos los muestreos en los cuatro predios se construyó la Figura 2-6, que muestra de manera general la variación de disponibilidad de polen a lo largo del día.

Figura 2-6 Estado de apertura y estado de remoción del polen de las anteras de cholupa a lo largo del día



▪ **Diversidad de visitantes**

Con base en los datos de los índices calculados, se realizaron comparaciones múltiples de la diversidad y dominancia entre los cuatro predios, para lo cual se utilizó una prueba t con un ajuste de Bonferroni (0,05/número de comparaciones).

En la Tabla 2-6 se presentan el promedio (\bar{X}) y el intervalo de confianza (IC). Se encontró que los valores de diversidad de los predios de Los Medios, La Honda y Alto pedregal marcados con la misma letra en la misma columna no difieren estadísticamente, $P < 0,05$, pero sí difieren de lo encontrado en Bajo Pedregal que presentó el valor más bajo.

Tabla 2-6 Índices de diversidad y dominancia calculados para los diferentes predios de estudio.

PREDIO	Número de especies	Individuos	Dominancia D (Simpson)		Uniformidad (1-D)		Diversidad H (Shannon)		Equitatividad (H/Ln # especies)	
			\bar{X}	IC 95%	\bar{X}	IC 95%	\bar{X}	IC 95%	\bar{X}	IC 95%
Los Medios	12	232	0,55	0,48-064a	0,45	0,36-0,52	1,12	0,93-1,29a	0,45	0,38-0,52
Bajo Pedregal	7	1446	0,96	0,95-0,98b	0,04	0,02-0,05	0,12	0,08-0,16b	0,06	0,06-0,08
La Honda	17	445	0,57	0,51-0,63a	0,43	0,37-0,49	1,15	1,01-1,29a	0,41	0,36-0,46
Alto Pedregal	13	330	0,48	0,42-0,54a	0,52	0,46-0,58	1,28	1,14-1,42a	0,50	0,44-0,56

- **Polen de contacto**

En la Tabla 2-7 se presenta el resumen de los datos obtenidos en esta sección. Vale la pena reiterar que los datos corresponden a los conteos de 30 campos representativos de cada muestra en el microscopio óptico y no al total de los granos que puede tener la abeja en cada parte.

Tabla 2-7 Promedios del número de granos en muestras de polen de contacto de las diferentes partes corporales de los visitantes de *P. maliformis*.

Grupo de abeja	ESPECIE	CARGA CORBICULAR	ESCOPA	ABDOMEN	CABEZA	PATAS	RESTO	TODO	TORAX DORSAL	TORAX VENTRAL	Total	% PDPP
<i>Apis mellifera</i>	<i>Apis mellifera</i>	1530	-	26	16	149	-	-	21	192	1933	21
Xylocopini	<i>Xylocopa frontalis</i>	-	167	74	281	184	-	-	488	280	1474	89
Otras Apidae medianas	<i>Eucerini</i>	-	79	42	22	18	-	-	48	119	327	76
	<i>Euglossa variabilis</i>	-	-	4	2	12	-	-	10	-	28	100
	<i>Euglossa</i> sp.	118	-	64	110	-	-	-	72	-	364	68
Meliponini	<i>Nannotrigona mellaria</i>	443	-	-	-	-	46	48	-	-	537	17
	<i>Scaptotrigona</i> sp.	0						6	-	-	6	100
	<i>Tetragona</i> sp.	10000						44			10044	0
	<i>Trigona fulviventris</i>	14		1	2	0			14		32	57
	<i>Trigonisca</i> sp.	1748						20			1768	1
Halictidae	Halictidae / Augochlorini sp.1			51	18	28			32		129	100
	Halictidae / Augochlorini sp.2			43	43	76			35		197	100
Euglossini (Eulaema)	<i>Eulaema cingulata</i>	25		40	220	325			199		809	97
	<i>Eulaema nigrita</i>	119		31	186	87			296	68	786	85
	<i>Eulaema polychroma</i>	18		27	167	36			180		428	96
Centridini	<i>Centris obsoleta</i>		99	53	170				1780		2102	95
	<i>Centris flavifrons</i>		247	61	69	29			500	218	1123	78
	<i>Centris insignis</i>		34	21	128	73			439	15	710	95
	<i>Centris vittata</i>		3	5	9				545		562	99
	<i>Epicharis (Epicharana)</i> sp.		13	3	35	15			286	8	360	96
	<i>Epicharis (Hoplepicharis)</i> sp.			14	19	5			72		110	100

Se realizó la estimación del porcentaje de polen de cada especie, que está potencialmente disponible para polinizar (% PDPP en la Tabla 2-7) mediante el cálculo de la diferencia entre el total de polen en las diferentes muestras del individuo y la cantidad de polen correspondiente a cargas corbiculares o cargas en escopas. *Apis mellifera*, pese a poseer un alto número de granos de polen transportados, solamente posee el 21% disponible ya que muchas de las obreras forrajean por este recurso y lo aglomeran en las corbículas haciendo que este no esté disponible para polinizar.

Como era de esperarse las abejas de mayor tamaño (Centridini, *Xylocopa* y *Eulaema*) son las que transportan mayores cantidades de polen, principalmente en el tórax y la cabeza, que son las zonas corporales que tiene contacto con las partes reproductivas de la flor de cholupa.

Se realizaron comparaciones entre la cantidad total de polen transportado por las especies con más de 5 muestras

Se encontraron diferencias significativas entre las especies evaluadas en la cantidad de polen transportada en su cuerpo ($F=18,67$; $gl=11/289$ $P \leq 0,001$). Según las comparaciones realizadas con la prueba de Tukey-Kramer se formaron los siguientes grupos, grupo A: abejas de porte grande, mayor a 2 cm de longitud corporal; el grupo B comparte especies con el grupo A e incluye una especie de la tribu Eucerini, de tamaño mediano. Los grupos C y D so grupos mixtos entre abejas grandes y medianas; finalmente, los grupos e y f contienen las especies más pequeñas, principalmente miembros de la tribu Meliponini.

Tabla 2-8 Resumen con el promedio de la cantidad de polen transportado en el cuerpo por los visitantes florales de la cholupa. Promedios que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Visitante	Número de individuos capturados	Promedio del número de granos transportado*	Desviación	Valor mínimo	Valor máximo	Grupo						
<i>Apis mellifera</i> (Néctar)	87	92,1	208,9	1	1693						E	F
<i>Apis mellifera</i> (Polen)	25	145,0	147,2	14	533			C	D	E		
<i>Centris flavifrons</i>	27	742,0	902,9	5	4165	A	B					

Visitante	Número de individuos capturados	Promedio del número de granos transportado*	Desviación	Valor mínimo	Valor máximo	Grupo					
						A	B	C	D	E	F
<i>Centris insignis</i>	11	607,0	693,4	9	2524	A	B	C			
<i>Epicharis (Epicharana) sp.</i>	6	325,0	382,7	3	862	A	B	C	D	E	
Eucerini	12	122,0	99,8	7	289		B	C	D	E	
<i>Eulaema cingulata</i>	25	644,0	796,1	10	3795	A	B				
<i>Eulaema nigrita</i>	39	551,0	571,4	4	2271	A	B				
<i>Eulaema polychroma</i>	21	395,0	612,0	15	2464	A	B	C	D		
<i>Nannotrigona mellaria</i>	12	47,7	36,7	4	138				D	E	F
<i>Trigonisca sp.</i>	6	19,5	21,2	0	49						F
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) frontalis</i>	30	904,0	831,3	7	3357	A					

* La variable se transformó con $\log x+0,5$ para mejorar la normalidad y homogeneidad de varianza.

▪ **Visitas controladas**

Para las visitas únicas se hicieron comparaciones únicamente entre visitas de especies que presentaron formación de frutos (Tabla 2-9).

Tabla 2-9 Formación de frutos de cholupa a partir de visitas únicas

Especie	Flores evaluadas	Retención Inicial	Retención Final	Porcentaje de formación de frutos
<i>Apis mellifera</i>	49	1	0	0
<i>Bombus</i> sp.	2	2	0	0
<i>Centris flavifrons</i>	31	24	4	12,9
<i>Centris insignis</i>	10	9	2	20,0
<i>Epicharis</i> sp.	2	2	0	0
<i>Eulaema cingulata</i>	19	16	4	21,1
<i>Eulaema nigrita</i>	44	31	4	9,1
<i>Xylocopa frontalis</i>	15	14	2	13,3

No se encontraron diferencias en el número de frutos formados para las especies comparadas ($\chi^2 = 2,04$; $gl=4$; $P= 0,729$). Por lo cual se puede deducir que el efecto positivo ejercido por *Centris flavifrons*, *Centris insignis*, *Eulaema cingulata*, *Eulaema nigrita* y *Xylocopa frontalis* sobre de la polinización de la cholupa es similar.

Dado que *A. mellifera* es el visitante más frecuente y aprovecha tanto néctar como polen, se realizó una comparación de los resultados de visitas múltiples obtenidos con base en el número de visitas y en el recurso recolectado (Tablas 2-10 y 2-11).

Tabla 2-10 Formación de frutos de cholupa a partir de visitas múltiples de *A. mellifera*

Número de visitas	Flores evaluadas	Retención inicial	Retención final	%
2	36	2	2	5,6
3	40	5	2	5,0
4	22	1	1	4,5
5	35	13	4	11,4
>5	15	5	0	0,0

La formación de frutos no se ve afectada por el número de vistas de *Apis mellifera*. No se encontraron diferencias significativas ($\chi^2 = 2,91$; $gl=4$; $P= 0,572$)

Tampoco se encontraron diferencias en la formación de frutos según el tipo de visita: néctar, polen o ambos recursos ($\chi^2 = 20,31$; $gl=2$; $P= 0, 849$)

Tabla 2-11 Formación de frutos de cholupa a partir de visitas de *A. mellifera* por diferentes recursos

Recurso	Flores	Inicial	Final	%
Néctar	76	6	5	6,6
Polen	45	14	3	6,7
Néctar y Polen	27	6	1	3,7

De las 30 flores expuestas a visitas combinadas, solamente 2 llegaron a formar frutos cosechables, una visitada por *Eulaema nigrita* y *A. mellifera* y otra visitada por *E. cingulata* y *A. mellifera*.

▪ **Identificación de potenciales polinizadores**

Se calculó el Índice de Importancia de Polinización (PII) para los visitantes que presentaron mayor frecuencia de visitas en los censos, es decir *A. mellifera* y las diez especies nativas con mayores porcentajes de aparición.

Para el cálculo del componente PE o efectividad se tuvieron en cuenta dos características, el tamaño y la sincronía con la flor. En el caso del tamaño se asignaron valores según la longitud corporal de las abejas como se muestra en la tabla 2-12. Desde el valor más pequeño (0,5 cm) hasta el valor máximo (2,6 cm) se aumentaba 0,045 por cada milímetro.

Tabla 2-12 Asignación de puntaje según el tamaño corporal de las abejas

Visitante	Longitud corporal (cm)	Valor asignado
<i>Trigonisca</i> sp.	0,5	0,045
<i>Nannotrigona mellaria</i>	0,7	0,135
Eucerini	1,3	0,405
<i>Apis mellifera</i>	1,5	0,495
<i>Eulaema polychroma</i>	2,2	0,81
<i>Eulaema nigrita</i>	2,3	0,855
<i>Eulaema cingulata</i>	2,3	0,855
<i>Epicharis</i> sp.	2,3	0,855
<i>Centris flavifrons</i>	2,4	0,9
<i>Xylocopa frontalis</i>	2,6	1
<i>Centris insignis</i>	2,6	1

Para asignar puntaje con respecto a la sincronía con la flor se tuvo en cuenta el periodo de mayor despliegue floral que se presenta entre las 9:00 y las 13:00 h y corresponde a la etapa en la que los sépalos y pétalos logran el máximo ángulo de flexión en el plano superior, las coronas logran el máximo valor de apertura en torno al androginóforo que queda completamente exhibido, y además es la fase en la que la concentración de sacarosa por unidad de volumen presenta el mayor valor (0,56 mg/μl) (Henaó 2014).

Por parte de las abejas se tomó la hora durante la cual se presentaron picos de actividad medida en más visitas a las flores de cholupa. En la tabla 2-13 se indican los valores asignados.

Tabla 2-13 Guía de asignación de valores por la sincronización con la flor

HORA	6:00	7:00	8:00	9:00	10:00	11:00	12:00	13:00	14:00	15:00	16:00	17:00
Despliegue floral	0,1	0,25	0,5	1	1	1	1	1	0,5	0,25	0,1	0,1
<i>A. mellifera</i> /néctar		0,25										
<i>A. mellifera</i> /polen										0,25		
<i>Eulaema nigrita</i>						1						
<i>Centris flavifrons</i>				1								
<i>Xylocopa frontalis</i>					1							
<i>Nannotrigona mellaria</i>					1							
<i>Eulaema cingulata</i>			0,5									
<i>Trigonisca</i> sp.										0,25		
<i>Eulaema polychroma</i>				1								
Eucerini			0,5									
<i>Centris insignis</i>			0,5									
<i>Epicharis</i> sp.			0,5									

Finalmente el valor de PE se calculó promediando los valores asignados para tamaño y sincronía con la flor

En la tabla 2-14 se muestran los valores de los diferentes componentes de la fórmula para calcular este índice.

Tabla 2-14 Importancia en polinización (PII) para las principales abejas visitantes de la cholupa

Visitantes	C	PCC	VR	PE	PIV	PII
<i>A. mellifera</i>	0,63	0,04	87,53	0,37	0,91	53,88
<i>Eulaema nigrita</i>	0,66	0,07	2,28	0,93	0,10	5,99
<i>Centris flavifrons</i>	0,37	0,10	1,71	0,95	0,06	3,43
<i>Xylocopa frontalis</i>	0,60	0,14	1,67	1,00	0,14	8,56
<i>Nannotrigona mellaria</i>	0,21	0,01	1,43	0,57	0,00	0,10
<i>Eulaema cingulata</i>	0,68	0,09	1,30	5,68	0,43	25,63
<i>Trigonisca</i> sp.	0,03	0,00	1,14	0,15	0,00	0,001
<i>Eulaema polychroma</i>	0,55	0,04	1,02	0,91	0,02	1,34
Eucerini	0,29	0,03	0,53	0,45	0,00002	0,11
<i>Centris insignis</i>	0,38	0,07	0,49	0,75	0,01	0,61
<i>Epicharis</i> sp.	0,60	0,04	0,29	0,68	0,00	0,26

2.2.3 Dependencia de polinizadores

Teniendo en cuenta el resultado de los experimentos de polinización controlada, se evidencia que para que la retención final de frutos de *P. maliformis* es mayor con la acción de agentes polinizadores.

Para calcular el grado de dependencia según Klein *et al.* (2007), se tuvo en cuenta que no todas las flores en condiciones naturales llegan a fruto cosechable, según los datos que se presentan en la tabla 2-2, con la polinización abierta (Tratamiento control) solamente se obtiene el 32.7% de los frutos, por lo cual el rendimiento que se toma como referencia es este valor, para calcular en cuanto se reduce la producción con la exclusión de polinizadores, se tomó el resultado obtenido del tratamiento de autopolinización espontánea que fue de 7.3%. La reducción es entonces el 7.3% del máximo posible que es 32.7%, es decir un 77.7%, que según las categorías de dependencia corresponde a una dependencia Alta (con una reducción de 40 a < 90 %).

2.3 Discusión

2.3.1 Biología reproductiva

Aunque la tendencia xenógama y dependiente de vectores de polen en la cholupa encontrada por Henao (2014) se corrobora, hubo contraste con respecto al resultado de la autopolinización, ya que se encontró que sí se producen frutos por esta vía aunque en baja proporción (7,3%), el resultado que se reporta en el presente estudio está en línea con la predicción que se puede hacer con la clasificación de Cruden (1977), según la cual *P. maliformis* es autógama facultativa según la relación polen/óvulo y parcialmente auto-compatible, con polinización cruzada y demanda por polinizadores de acuerdo al índice de xenogamia, por lo que no se descarta que sea parcialmente autocompatible y esto no excluye el que necesite de agentes de polinización y que la polinización cruzada promueva la producción de más y mejores frutos y semillas.

La tendencia de autopolinización parcial se ha documentado en otras pasifloras, por ejemplo, en *P. suberosa* se presenta el 30% de autoincompatibilidad (Amela-García 2008) y el 70% (Koschnitzke & Sazima 1997), *P. lutea* tiene de 0 a 24% dependiendo de la fecha (Holland & Lanza 2008), *Passiflora capsularis* 14% (Faria & Stehmann 2010), *P. edulis* f. *edulis* 30% (Ángel-Coca *et al.* 2011), sin embargo, en todas se resalta que la autopolinización manual y los métodos que incluyen la polinización cruzada incrementan la producción.

Por otra parte estas diferencias pueden deberse a expresiones locales de una adaptación determinada por la respuesta de una población a diferencias ambientales como lo plantean Ángel-Coca *et al.* (2011) y que se ha reportado para casos de poblaciones de *Passiflora lutea* separadas espacialmente y estudiadas en diferentes épocas (Holland & Lanza 2008).

2.3.2 Polinizadores

▪ Tasa de visitas y diversidad

En general, *P. maliformis* cumple con las condiciones reportadas como diagnósticas de la polinización por abejas por parte de *Passiflora* (Ramírez 2006), colores azul, morado, rosado, amarillo; anthesis diurna; fragancia intensa; pedicelo flexible y péndulo; filamentos de la corona libres y flores no salidas del follaje. Por lo que se esperaba que la lista de polinizadores estuviera compuesta principalmente por abejas.

Con respecto a la composición de visitantes de las flores de cholupa se encontró que tiene una tendencia similar a lo registrado para varias Passifloraceae, la reiterada relación con abejas del género *Xylocopa* (Janzen 1968, Corbet 1980, Varassin *et al.* 2000, Camillo 2003) aunque también están presentes otras especies de abejorros de porte grande que han sido reportados como visitantes y polinizadores en pasifloras, *E. nigrita* (da Silva *et al.* 2012), *C. flavifrons* (Rego *et al.* 2006) y otros representantes de los géneros *Xylocopa*, *Centris*, *Eulaema* y *Epicharis* en estudios realizados en Colombia (Franco *et al.* 2007, Calle *et al.* 2010, Melo 2007, Medina *et al.* 2012)

Sin embargo se observó que es una fuente de recursos alimenticios para otros grupos de abejas, por lo que la cholupa se puede posicionar como un componente importante para el agroecosistema ya que si bien éstas abejas no son sus polinizadores efectivos, sí lo pueden ser de otras plantas importantes en zonas naturales e incluso en otras plantas cultivadas.

La alta incidencia de *A. mellifera* frente a las otras especies pone de manifiesto el potencial de manejo de colonias en la región que encontrarían en la época de floración de la cholupa, un recurso alimenticio completo y abundante, no obstante se requiere de un estudio profundo para determinar si existe un efecto negativo de *A. mellifera* sobre las especies nativas debido a superposición de nicho trófico o acaparamiento del polen que no queda disponible para transferencia a otras flores y que tenga consecuente reducción en la producción de frutos.

Si se observan las figura 2-5 y 2- 6 se puede visualizar este último efecto, por una parte en el pico de actividad de la mañana en el cual se presenta el forrajeo de polen por *A. mellifera*, es el momento en el que estas obreras reclutan más individuos y se dedican a

llenar sus corbículas, en algunos casos solamente obtienen polen de una flor y éste es suficiente para completar su carga, por lo cual no se promueve la polinización cruzada. Por otra parte se puede observar que los visitantes de las florales después de las 14 h van a encontrar flores que pese a ofrecer abundante néctar ya tienen una remoción de polen alta lo cual indica que el pico de actividad de visitas de *A. mellifera* por néctar, que abarca la mayoría de las visitas de esta especie, no es muy efectivo en transferencia de polen. Otro aspecto negativo que se observó fue el comportamiento ocasional de robo de néctar, en el que las obreras de *A. mellifera* y otras abejas de menor tamaño entran por un lado de las coronas y no tocan las estructuras reproductivas.

Las abejas de longitud corporal menor a 1 cm de largo no realizan transferencia de polen dadas las dimensiones de la flor, el contacto con el estigma se presenta más de manera accidental, en cambio las abejas de porte mayor pueden tener contacto tanto con las anteras como con el estigma. *A. mellifera*, pese a ser la visitante más frecuente, no siempre toca los estigmas con las partes que quedan impregnadas de polen. Las abejas grandes, de más de 1,7 cm de largo, de los géneros *Centris*, *Epicharis*, *Eulaema* y *Xylocopa*, tienen contacto con las partes reproductivas en la gran mayoría de los casos.

Resulta interesante implementar la evaluación de la sincronía de la actividad de los visitantes con la fenología floral, especialmente en flores de corta duración, este aspecto cobra valor ya que se puede usar como criterio determinante de la potencialidad de polinización por parte del visitante. Al respecto se encontró que las abejas que presentan mejor acople morfológico con la flor de cholupa por su tamaño corporal son precisamente las que poseen picos de actividad que coinciden con el momento en que la flor presenta mayor receptividad del estigma y evidencian una relación estrecha ya que la recompensa en ese período es el néctar con mayor concentración de azúcares, característica asociada con la polinización por abejas (Faegri y van der Pijl 1980), principalmente abejas de tamaño grande con necesidades energéticas considerables y como las del género *Xylocopa*, que producen exceso de agua por el metabolismo asociado al vuelo (Corbet 1980, Nicolson 1990), por lo que les resulta ventajoso ingerir néctar más concentrado.

- **Polen de contacto**

Los resultados del análisis de polen de contacto permiten observar que las partes de las abejas de porte mediano a grande, es decir tan grandes o más grandes que *A. mellifera*, que tienen contacto con las partes reproductivas de la flor son, el abdomen, cabeza y tórax, al descartar el polen de cargas de corbícula y escopa y tener en cuenta solamente el polen disponible para ser transferido, se observa que una abeja del género *Xylocopa* o *Eulaema* puede transportar más polen únicamente en su tórax, que el que puede transportar una o varias abejas de menor porte en todo su cuerpo. Para el caso de *A. mellifera* se observa que la cantidad de granos que transporta es menor con respecto al número que transportan abejas más grandes, pero su acción como polinizadora se puede ver compensada por la alta frecuencia de sus visitas.

- **Visitas controladas**

Aunque los ensayos de visitas no corresponden a tratamientos de biología reproductiva, los resultados pueden agruparse estadísticamente con los de autopolinización espontánea (Tabla 2), Es importante notar que contrario a lo que se esperaba el tratamiento de visitas únicas tuvo mejores resultados que los de visitas múltiples y combinadas, sin embargo hay que resaltar que las visitas únicas que generan frutos son únicamente de abejas nativas de porte grande (*Eulaema nigrita*, *Eulaema cingulata*, *Centris flavifrons*, *Centris insignis* y *Xylocopa frontalis*), no se forman frutos a partir de visitas únicas de *A. mellifera*, y dadas las dificultades para obtener visitas múltiples de abejas nativas en la cholupa, todas las visitas múltiples corresponden a *A. mellifera*.

Al observar en conjunto los resultados de frutos formados por todos los experimentos de polinización controlada se puede ver que los resultados obtenidos con el tratamiento de xenogamia son notablemente más altos que los demás, incluso que el tratamiento de polinización abierta (control) corresponde a menos de la mitad de los frutos que se podrían obtener con la polinización cruzada por lo cual se podría deducir que existe un déficit de polinización, aunque no se siguen aquí los métodos recomendados para esta afirmación (Vaissière *et al.* 2011), podrían plantearse estas comparaciones como soporte de un diagnóstico previo.

En el cálculo de la dependencia de polinizadores se tuvieron en cuenta únicamente los resultados de éste estudio, pero el porcentaje de reducción de la producción debida a la ausencia de polinizadores puede ser mayor teniendo en cuenta los resultados obtenidos por Henao (2014) en la que solo obtuvo frutos con experimentos alógamos, lo que daría como resultado una dependencia de tipo “esencial” <90% según Klein *et al.* (2007).

Con respecto al tema de la alta frecuencia de visita de *Apis mellifera* vale la pena tener en cuenta que no siempre el visitante más frecuente es necesariamente el más efectivo, el resultado que se obtuvo al calcular el índice de importancia de polinización PII posiciona a *Apis mellifera* como el polinizador más efectivo, sin embargo, vale la pena manejar con cuidado esta información, ya que puede estar indicando que el índice no es el más adecuado para concluir sobre este aspecto, además los casos en los que visitantes muy frecuentes pero con un aporte pobre a la polinización han sido documentados en varias ocasiones (Crome & Irvine 1989, Herrera 1990) incluso, se ha propuesto que la presencia de *Apis mellifera* puede disminuir el fitness reproductivo (Gross & Mackay 1998) al presentar comportamientos como los documentados aquí, como la alta remoción de polen y la baja deposición si se tiene en cuenta la baja cantidad de polen disponible para polinizar.

2.4 Conclusiones

Se corroboró la condición preferencia xenógama de *P. maliformis* en cuanto a su estrategia reproductiva, evidenciado por la mayor proporción de formación de frutos y frutos de mayor peso total, con mayor peso de pulpa más semillas y mayor número de semillas. Sin embargo se encontró que puede ser parcialmente autocompatible.

La cholupa es fuente de néctar de al menos 21 especies de abejas (sociales y solitarias) en la región.

La especie con mayor frecuencia de visitas es *Apis mellifera*.

Las especies con mayor potencial como polinizadoras son abejas de porte grande como algunos abejones del grupo de las abejas de las orquídeas (*Eulaema*), de las abejas recolectoras de aceite (*Centris* y *Epicharis*) y de las abejas carpinteras del género *Xylocopa*. Estas abejas tienen mayor capacidad de contacto con las partes reproductivas de la cholupa.

Los visitantes florales de mayor importancia como polinizadores según el Índice de importancia de polinización son: *Apis mellifera*, *Eulaema cingulata*, *Xylocopa frontalis*, *Eulaema nigrita* y *Centris flavifrons*.

Apis mellifera puede ser polinizadora cuando realiza visitas reiteradas o en grupos, sin embargo, la cantidad de polen transportada por individuo es inferior a la potencialmente transferida por abejas nativas de porte grande.

Aunque *A. mellifera* puede ser polinizadora, el efecto de su alta frecuencia de visitas puede verse disminuido por su asincronía con la fase más receptiva de la flor y por el acaparamiento del recuso polínico que reduce la cantidad de polen disponible para ser transferido por otras abejas.

Aunque en algunos casos son frecuentes los visitantes de tamaño pequeño (menos de 1 cm de longitud corporal), se consideran oportunistas, ya que su tamaño y comportamiento no permite que aporten significativamente al proceso de polinización, sin embargo es necesario dar relevancia a la interacción que representa la importancia del recurso alimenticio que ofrece esta planta para el mantenimiento de la apifauna local.

Para que haya formación de frutos no son suficientes visitas únicas de *Apis mellifera*, se necesita la intervención de abejas de porte grande o varios visitantes que transporten efectivamente el polen.

Los resultados de los experimentos de polinización controlada sugieren un déficit de polinización ya que la cantidad de frutos producidos por los diferentes tratamientos está muy por debajo del valor obtenido con el tratamiento de xenogamia.

Los ensayos de polinización demuestran que la dependencia que tiene la cholupa de las abejas polinizadoras es alta, ya que sin la acción de estos vectores de polen la producción se reduce un 77.7%.

2.5 Referencias

ALCALDÍA MUNICIPAL DE RIVERA HUILA. 1999. Esquema de Ordenamiento Territorial Rivera Huila 1999. Rivera – Colombia. 258 p.

AMELA-GARCÍA M T. 2008. Breeding system and related floral features under natural and experimental conditions of *Passiflora suberosa* (Passifloraceae). Bol. Soc. Argent. Bot.; 43(1-2):83-93.

ÁNGEL-COCA C, NATES-PARRA G, OSPINA-TORRES R, MELO C.D. AMAYA-MÁRQUEZ M. 2011. Biología floral y reproductiva de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims F. *edulis*). Caldasia. 33 (2): 433-451.

BONILLA MA, NATES-PARRA G. 1992. Abejas euglossinas de Colombia (Hymenoptera: Apidae) I. Claves ilustradas. Caldasia. 17(1): 149-172.

CALLE Z., GUARGUATA M., GIRALDO E., CHARÁ J. 2010. La producción de maracujá (*Passiflora edulis*) en Colombia: perspectivas para la conservación de hábitat a través del servicio de polinización. Interciencia. 35(3): 207-212.

CAMILLO E. 2003. Polinização do maracujá. Holos Editora, Ribeirão Preto. SP. 44p.

CORBET S.A. 1980. Pollination of the yellow passionfruit: nectar, pollen and carpenter bees. The Journal of Agricultural Science. 95(03):655 - 666.

CROME F.H.J., IRVINE A.K. 1986. "Two Bob Each Way": The Pollination and Breeding System of the Australian Rain Forest Tree *Syzygium cormiflorum* (Myrtaceae). Biotropica, Vol. 18 (2): 115-125.

CRUDEN R. W. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. Evolution 31: 32-46.

DA SILVA C.I., GOMES BORDON N., CORREIA DA ROCHA L., GARÓFALO C.A. 2012. The importance of plant diversity in maintaining the pollinator bee, *Eulaema nigrita* (Hymenoptera: Apidae) in sweet passion fruit fields. Revista de biologia tropical 60(4):1553-1565.

DELAPLANE K.S., MAYER D.F. 2000. Crop pollination by bees. CABI publishing. 352 pp.

DURAN HERNÁNDEZ J.D., MÉNDEZ ARTUNDUAGA G.A. 2008. Plan de negocios para exportar maracujá y cholupa como fruta fresca y/o en pulpa hacia Canadá. Trabajo de grado Carrera de Ingeniería Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de

Ingeniería. Carrera de Ingeniería Industrial. Departamento de Procesos Productivos. Bogotá. 138 pp.

ESCARAVAGE N., WAGNER J. 2004. Pollination effectiveness and pollen dispersal in a *Rhododendron ferrugineum* (Ericaceae) population. *Plant biology*, 6(5): 606–615

FAEGRI K, VAN DER PIJL L. 1980. The principles of pollination ecology. New York: Pergamon Press. 244 p.

FARIA F, STEHMANN J.R. 2010. Biología reproductiva de *Passiflora capsularis* L. e *P. pohlii* Mast. (Decaloba, Passifloraceae). *Acta bot. bras.* 24(1):262-269.

FRANCO Y., ALZATE F., PELÁEZ J.M. 2007. Factores ambientales incidentes en la población de *Xylocopa* y su efecto en el cultivo de granadilla en tres veredas del municipio de Guarne (Colombia). *Revista Universidad Católica de Oriente*. 24: 73–86.

FREE J.B. 1993. Insect pollination of crops. Academic Press, London-New York. 768 pp.

HAMMER Ø., HARPER D.A.T., RYAN P.D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9 http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm

GROSS C.L, MACKAY D. 1998. Honeybees reduce fitness in the pioneer shrub *Melastoma affine* (Melastomataceae). *Biological Conservation* 86:169-178.

HENAO M. 2014. Biología Floral y Reproductiva de la Cholupa. *Passiflora maliformis* (Passifloraceae). [Trabajo de Grado]. Bogotá: Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. 41 p.

HERNÁNDEZ A., GARCÍA, N. 2006. Las pasifloras (familia Passifloraceae). En: Libro rojo de plantas de Colombia. Las bromelias, las labiadas y las pasifloras. Garcia N., y Galeano G. (eds.). Volumen 3: 553-663.

HERRERA C.M. 1990. Daily patterns of pollinator activity, differential pollinating effectiveness, and floral resource availability, in a summer-flowering Mediterranean shrub. *OIKOs* 58 (3):277-288.

HOLLAND J.B., LANZA J. 2008. Geographic variation in pollination biology of *Passiflora lutea* (Passifloraceae). *Journal of the Arkansas Academy of Science* 62: 32-36.

- JANZEN D.H. 1968. Reproductive behavior in the Passifloraceae and some of its pollinators in Central America. *Behaviour* 32(1/3): 33-48.
- KIRKMAN T.W. 1996 *Statistics to Use*. [Citado 9 Octubre 2014]. Disponible en: <http://www.physics.csbsju.edu/stats/>
- KLEIN A.M., VAISSIERE B.E., CANE J.H., STEFFAN-DEWENTER I., CUNNINGHAM S.A., KREMEN C., TSCHARNTKE T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 274 (1608), 303–313.
- KOSCHNITZKE C, SAZIMA M. 1997. Biología floral de cinco especies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) em mata semidecídua. *Revta Brasil. Bot.*, São Paulo. 20(2):119-126.
- LINDSEY A.H. 1984. Reproductive biology of Apiaceae. I. Floral visitors to *Thaspium* and *Zizia* and the importance in pollination. *American Journal of Botany* 71: 375-387.
- MCDONALD J.H. 2014. *Handbook of Biological Statistics* (3rd ed.). Sparky House Publishing, Baltimore, Maryland. <http://www.biostathandbook.com/fishers.html> (25 de octubre de 2014).
- MEDINA J., OSPINA R., NATES-PARRA G. 2012. Efecto de la variación altitudinal sobre la polinización en cultivos de gulupa (*Passiflora edulis* f. *edulis*). *Acta biológica Colombiana*, 17(2): 381–395.
- MELO D. 2007. Diagnóstico para la cría y conservación de abejas polinizadoras de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss) en Buenavista, Boyacá, Colombia. [Trabajo de Grado], Bogotá: Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia.
- NATES-PARRA G. FERNÁNDEZ F.. 1992. Abejas de Colombia II. Claves preliminares para las familias, subfamilias y tribus (Hymenoptera: Apidae). *Acta Biológica Colombiana* 2(7–8): 55–89.
- NICOLSON SW. 1990. Osmoregulation in a nectar-feeding insect, the carpenter bee *Xylocopa capitata*: water excess and ion conservation. *Physiological Entomology* 15: 433–440.
- OCAMPO J. 2013. Diversidad y distribución de las Passifloraceae en el departamento del Huila en Colombia. *Acta biol. Colomb.* 18(3):511-516.

OCAMPO PÉREZ J.A., COPPENS D'EECKENBRUGGE G., RESTREPO M.T., JARVIS A, SALAZAR M.H., CAETANO C.M. 2007. Diversity of Colombian Passifloraceae: biogeography and an updated list for conservation. *Biota Colombiana*, 8 (1): 1-45.

OCAMPO PEREZ J.A., SALAZAR M.H., CAETANO C.M.COPPENS D'EECKENBRUGGE G., RESTREPO M.T., JARVIS A., 2006. Distribución y riqueza de especies de la familia Passifloraceae en Colombia. Resúmenes IX Congreso Latinoamericano de Botánica, Santo Domingo, República Dominicana. P 113.

RAMÍREZ B.W. 2006. Hibridación Interespecífica en *Passiflora* (Passifloraceae), mediante polinización manual y características florales para la polinización. *LANKESTERIANA*; 6(3):123-131.

REGO M., ALBUQUERQUE P., RAMOS M., CARREIRA L. 2006. Aspectos da Biologia de Nidificação de *Centris flavifrons* (Friese) (Hymenoptera: Apidae, Centridini), um dos Principais Polinizadores do Murici (*Byrsonima crassifolia* L. Kunth, Malpighiaceae), no Maranhão *Neotropical Entomology* 35(5):579-587

RODRÍGUEZ A. 2010. Analisis Comparativo Entre Cholupa y Gulupa Secretaria de Agricultura y Minería Gobernación del Huila. Boletín Informativo N° 01, 27 de Agosto De 2010.

SECRETARÍA DE INDUSTRIA Y COMERCIO. 2007, Resolución NO. 43536.

SILVA C.I., MARCHI P., ALEIXO K.P., NUNES-SILVA B., FREITAS B. M., GARÓFALO, A.B., IMPERATRIZ-FONSECA V., OLIVEIRA P E.A.M., ALVES-DOS-SANTOS I. 2014. Manejo dos Polinizadores e Polinização das Flores do Maracujazeiro. São Paulo: Instituto de Estudos Avançados da Universidade de São Paulo, Co-Editor: Ministério do Meio Ambiente – Brasil. 59 p.

SILVEIRA F. A., MELO G. A. R. & ALMEIDA E. A. B. 2002. Abelhas Brasileiras: Sistemática e identificação. Belo Horizonte. 253 p.

VAISSIÈRE B E, FREITAS B M, GEMMILL-HERREN B. 2011. Protocol to Detect and Assess Pollination deficits in Crops. FAO/IFAD project: "Development of tools and methods for conservation and management of pollination services for sustainable agriculture".

VANDERPLANK J. 1996. Passion Flowers. The MIT Press, 2nd. Edición, Cambridge. 224 P.

VARASSIN I.G., TRIGO J.R., SAZIMA M. 2001. The role of nectar production, flower pigments and odour in the pollination of four species of *Passiflora* (Passifloraceae) in south-eastern Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society* 136: 139-152.

VÉLEZ E.D. 2012. Revisión del género *Centris* Fabricius, 1804 (Hymenoptera: Apidae: Centridini) en Colombia [Tesis de maestría]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.

YAMAMOTO, M., da SILVA C.I., AUGUSTO S.C., BARBOSA A.A., OLIVEIRA P.E. 2012. The role of bee diversity in pollination and fruit set of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* forma *flavicarpa*, Passifloraceae) crop in Central Brazil. *Apidologie* 43:515–526.

3. Valor económico del servicio de polinización prestado por abejas en dos cultivos promisorios colombianos, estudios de caso de la champa y la cholupa

3.1 Introducción

3.1.1 La polinización como servicio ecosistémico

La polinización, entendida como la transferencia de polen o gametos masculinos al estigma (Proctor *et al.* 1996), es el paso previo a la fertilización, de la cual depende la formación de frutos y semillas. Constituye el principal mecanismo de reproducción sexual de angiospermas.

Existen numerosos métodos de aproximación al estudio de la polinización y la eficiencia de la polinización, aunque la formación de frutos y semillas realmente no es una medida directa de la polinización si no del éxito reproductivo, es un método válido que puede usarse para evaluar la polinización Ne'eman *et al.* (2010).

El abordaje del estudio de la polinización como servicio ecosistémico requiere una clara diferenciación de conceptos como el de *Función ecosistémica*, que se refiere a todos los aspectos de la estructura y el funcionamiento de los ecosistemas con capacidad de generar servicios que satisfagan las necesidades humanas de manera directa o indirecta (De Groot 1992). Las funciones ecosistémicas existen independientemente de su uso, demanda, disfrute o valoración social. En tanto que los servicios ecosistémicos se pueden definir siguiendo propuesta de la Evaluación de Ecosistemas del Milenio (MA), como “beneficios que la gente obtiene de los ecosistemas”.

La MA, reconoce tres categorías de servicios de los ecosistemas: de provisión (alimento, fibras, agua, recursos genéticos, medicinas), de regulación (regulación hídrica, atmosférica, climática, de la erosión, de enfermedades y de plagas; la purificación del

agua y la polinización), y los culturales (valores religiosos, espirituales, valor estético, recreación y ecoturismo). Las funciones de los ecosistemas se traducen en servicios ecosistémicos sólo cuando son usadas de forma consciente o inconsciente por la población humana.

Aunque la polinización es reconocida como una función ecosistémica (De Groot 1992), En el contexto mencionado anteriormente se clasifica a la polinización dentro de los servicios ecosistémicos de regulación ya es un proceso necesario para la supervivencia de las plantas tanto en estado natural, como para muchas plantas de interés para el hombre.

3.1.2 Abejas y polinización de cultivos

El 60% de la producción mundial procede de cultivos que no dependen de la polinización animal, el 35% de los cultivos dependen de los polinizadores, y el 5% están sin evaluar (Klein *et al.* 2007).

Las abejas son consideradas como los principales polinizadores de los cultivos que requieren polinización por animales (Delaplane & Mayer, 2000; Free, 1993; Klein *et al.*, 2007).

La dependencia de polinizadores según Klein *et al.* (2007) es la medida del nivel de impacto que la polinización realizada por un vector animal, tiene sobre la productividad de determinada especie de planta. Esta dependencia de polinizadores puede ser Esencial, si la producción se reduce en un porcentaje ≥ 90 %, Alta, con una reducción de 40 a < 90 %, Modesta, si la reducción está entre 10 y < 40 %, Baja, si tiene una reducción entre > 0 a < 10 %, y Nula, si no hay reducción en la producción. Según Winfree *et al.* (2011) el valor de la dependencia puede calcularse con la fórmula 1:

$$D = 1 - (fpe / fp)$$

Donde:

D= dependencia del polinizador

fpe = Frutos formados en condiciones de exclusión de polinizadores

fp = Frutos formados en presencia de polinizador

3.1.3 Valoración económica del servicio de polinización

Las dinámicas tradicionales del mercado dejan por fuera algunos efectos (positivos y negativos) sobre el bienestar causados por las actividades del hombre en el medio ambiente, éstos no son compensados y constituyen las llamadas “externalidades”, sumado al carácter de acceso abierto o bienes comunes que tienen los servicios ambientales, esto impide que tengan precio y por lo tanto, que sean incluidos en la racionalidad del sistema de mercado, como si carecieran de valor (Azqueta 2002).

Los principales métodos de valoración ambiental pueden dividirse en dos categorías, directos e indirectos (Azqueta 2002, y Castiblanco 2003). Los métodos de valoración directos se presentan cuando no existe una relación entre el bien ambiental y un bien normal en mercado y la principal técnica que se utiliza es la del método de Valoración Contingente, que se basa en la: indagación directa de disposición a pagar por los usuarios (Azqueta 2002, Castiblanco 2003).

Los métodos de valoración indirectos son útiles ya que los bienes ambientales o muchas de sus funciones carecen de mercado se apoyan en las relaciones que se establecen entre las funciones de producción de bienes y servicios o de utilidades entre los bienes o servicios objeto de valoración y bienes y servicios o insumos productivos que se adquieren en el mercado (Azqueta 2002).

Entre los métodos indirectos se consideran: Valoración según el gasto de Mitigación, Costo de Reposición: Cambio en Productividad: Precios Hedónicos y Costo de viaje.

- *Valoración de la Polinización*

Uno de los métodos disponibles para aumentar el interés de los agricultores y los encargados de formular políticas en la conservación y el uso sostenible de los servicios de polinización es la valoración económica. Debido a que los servicios de polinización, en particular los que proporcionan los insectos silvestres, no se negocian en un mercado, su valor no puede ser examinado suficientemente en la toma de decisiones (Hein 2009). La valoración económica de los servicios de polinización proporciona información sobre las consecuencias económicas de la escasez de polinizadores potenciales y contribuye a la toma de decisiones en relación con el proceso de selección de las estrategias de mitigación alternativas (Bauer & Win 2010).

Específicamente para la valoración económica de la polinización se han utilizado diversos métodos dependiendo de la escala y de la información disponible. Las aproximaciones a nivel global o de países se basan fundamentalmente en los precios de mercado (Robinson *et al.* 1989, Morse & Calderone 2000, Kevan & Phillips 2001, Drucker 2004, Losey & Vaughan 2006).

Los estudios de valoración de los servicios de polinización se pueden clasificar en las siguientes cinco categorías según Bauer & Win (2010):

Servicios de polinización que proporcionan las abejas manejadas.

Cálculo a partir del el valor de la producción total anual del cultivo.

suma de los cambios en el excedente del productor y el consumidor inducidos por la disminución de la producción debido a una pérdida de los servicios de polinización (Kevan & Phillips 2001)

Enfoque de costo de reposición, en el que se estiman alternativas como la polinización manual.

Paisaje, relación de las características de los fragmentos de hábitat (por ejemplo, tamaño, forma, distancia al cultivo de la tierra, la densidad y diversidad de especies de polinizadores) con los rendimientos de los cultivos

La FAO ha publicado manuales y protocolos para la evaluación del servicio de la polinización, uno de ellos es el de Gallai & Vaissière (2009) en el que se presentan los lineamientos para calcular el valor de la polinización a nivel nacional con una herramienta sencilla de excel y con al uso de datos de las bases de datos de la FAO. Otro documento a destacar es el de Mburu *et al.* (2006) en el que realizan una comparación de métodos usados para valorar la polinización y en el que presentan como ejemplo la valoración realizada con la fórmula 2 propuesta por Ricketts *et al.* (2004) que es la que se usará en este estudio:

$$V = S \cdot \Delta q \cdot (P - C)$$

Dónde:

V= Valor de los beneficios para el productor

S = área

q = incremento de producción consecuencia de polinización (Dependencia)

p = precio de fruto

C = costos de producción

Los métodos utilizados tradicionalmente para valorar la polinización han sido muy criticados tanto en su fundamento teórico como en los resultados obtenidos que en algunos casos producen valores contrastantes (Allsopp *et al.* 2008, Winfree *et al.* 2011). Winfree *et al.* (2011), proponen un tercer método alternativo que combina las fortalezas del método de valor de reposición y del método basado en el valor de producción y hacen adiciones para corregir las deficiencias que poseen, que requiere la inclusión de los costos en los que incurre el productor para obtener su cosecha y en datos específicos de la deposición de polen por los polinizadores.

Para Colombia no se encuentran disponibles estudios específicos sobre valoración de la polinización, pese al creciente interés sobre estudios de polinización y valoración de servicios ecosistémicos, éstos últimos se concentran en el tema de los recursos hídricos (Bello *et al.* 2013). Por lo cual el presente trabajo pretende abordar este tema y aportar nueva información que propicie la réplica de trabajos de enfoque similar que tengan la base científica suficiente para proporcionar datos sobre la dependencia de polinizadores de plantas de interés.

Por otra parte se espera complementar el trabajo estrictamente biológico reportado en los capítulos iniciales de este documento, con datos que puedan incorporarse a estrategias integrales de conservación de los polinizadores y sus hábitats, a manera de herramienta de acercamiento entre actores de las cadenas productivas de los frutales chamba, *Campomanesia lineatifolia* (en Miraflores, Boyacá) y *Passiflora maliformis* (En Rivera, Huila).

3.2 Materiales y métodos

Se calculó el valor monetario de la polinización realizada por abejas utilizando un método de valoración indirecta basado en el valor de producción y precio del mercado, la fórmula de Ricketts *et al.* (2004) descrita en el marco teórico.

Los datos de producción y precio de mercado se obtuvieron a partir de entrevistas no estructuradas y semiestructuradas realizadas a diferentes actores involucrados en las cadenas de producción (cultivadores, acopiadores y/o, comerciantes). El formulario de encuestas utilizado en las entrevistas semiestructuradas se presenta en el Anexo A. Además se consultaron reportes de rendimiento de los frutales en referencias secundarias.

Para la chamba se obtuvieron datos de 7 productores que comercializan su propia producción, una de ellas, socia fundadora de la Asociación de Mujeres Campesinas Las Delicias, los datos se complementaron con la información de López & Rodríguez 1995 y Cruz 2014.

Para la cholupa se entrevistaron 6 productores, uno de los cuales es acopiador y comerciante y otro es representante legal de la Cooperativa de Cholupa del Huila.

En el Anexo B se presenta la síntesis de la información de las entrevistas utilizada en el presente estudio.

La información sobre costos de producción de la cholupa se obtuvo de las encuestas y el complemento de los reportes de la Gobernación del Huila. (2012) y Montealegre (2013) dadas las marcadas divergencias que se obtuvieron sobre este aspecto.

Para calcular el valor de la dependencia de polinizadores de la chamba y la cholupa se utilizaron los datos de dependencia de polinización expuestos en los capítulos 1 y 2 de este documento.

3.3 Resultados

3.3.1 Valor de la polinización por abejas para la chamba *C. lineatifolia*

Para calcular el valor monetario atribuible a la polinización por abejas en la chamba se usó la Fórmula 2. A continuación se describe el cómo se obtuvo cada componente de la ecuación:

S = Área: El cultivo de este frutal no se encuentra mayormente extendido, muchos de los árboles que son aprovechados por sus frutos se encuentran como cerros vivos, remanentes en potreros, como sombrío en otros cultivos o cerca de las viviendas, y lo más común es que cada productor utilice pocos árboles que no siguen un patrón regular de distribución en los predios. En este caso el cálculo se hará con base en la unidad de producción definida como 1 kg de pulpa.

Δq = incremento de producción consecuencia de polinización (Dependencia): con base en los experimentos de polinización que se realizaron en el estudio de la biología reproductiva de la chamba, se encontró que el porcentaje de frutos producidos en ausencia de polinizadores es 0 y en presencia de polinizadores es de 9,7. Aplicando la fórmula 1 encontramos que:

$$\text{Dependencia} = \Delta q = 1 - (0 / 9,7) = 1$$

Es decir, como se describió en el primer capítulo, la dependencia de las abejas es esencial ya que la reducción en la producción de frutos de chamba en ausencia de polinizadores es del 100%.

p = Precio de fruto y C = costos de producción: se usaron los valores que corresponden a los promedios de los datos obtenidos en las entrevistas y que se explican a continuación

Dado que el fruto de la chamba es altamente perecible, la forma de comercialización más usada es en forma de pulpa, los productores procesan la fruta y para obtener 1 kg de pulpa utilizan aproximadamente 2 kg de fruta fresca. En una jornada de trabajo, una persona puede procesar una canastilla que contiene en promedio 30 kg de fruta, a partir de la cual se obtienen 15 kg de pulpa. Para obtener 1 kg de pulpa la principal inversión que se hace es el pago de personal en jornales para algunos cuidados de los árboles durante el año (poda, limpieza de plantas que crecen sobre las ramas, y aplicación de abonos ocasionalmente), la mayor dedicación al proceso ocurre en las etapas de recolección y procesamiento de la fruta. Por lo tanto la fracción de jornal que emplea un trabajador en procesar fruta para obtener 1 kg de pulpa es de \$1.667. Para los cálculos se tuvo en cuenta que el valor actual de 1 bolsa de pulpa de 1 kg cuesta \$2.500 en promedio y un jornal de trabajo se paga a \$25.000.

$$V = 1 (\text{dependencia}) * 1\text{kg de pulpa} * (\$2.500/\text{kg} - \$1.667/\text{kg})$$

$$V = \$833$$

El beneficio económico por el trabajo de polinización es de \$833 por cada kg de pulpa, es decir, la ganancia obtenida en cada bolsa de pulpa se debe al trabajo realizado por las abejas y corresponde aproximadamente al 33% de la producción.

3.3.2 Valor de la polinización por abejas para la cholupa *P. maliformis*

Al igual que en el caso anterior, se realizó el cálculo del valor monetario atribuible a la polinización por abejas por medio de la fórmula 2. El cálculo de cada componente de la ecuación es el siguiente:

S = área: Durante las indagaciones sobre los valores de producción y sus costos se intentó obtener datos aplicables a una hectárea, en los casos en los que no correspondía, se realizó la extrapolación, por lo tanto este valor es igual a 1

Δq = incremento de producción consecuencia de polinización (Dependencia): Para el caso de *P. maliformis* los experimentos de polinización controlada permitieron observar que porcentaje de frutos producidos en ausencia de polinizadores es 7.3 y en presencia de polinizadores es de 76.7, aplicando la fórmula 1 y encontramos que:

$$D = 1 - (7 / 76,7) = 0.91$$

p = Precio de fruto: La cholupa se comercializa en fruto, empacado en bolsas de 10 –kg en promedio, se estima que se producen 12 toneladas anuales por hectárea cultivada. Por cada bolsa se le paga al productor un promedio de \$15.000 por lo que las 12 toneladas equivalen a 18.000.000

C = Costos de producción: El promedio de costos de producción en 1 ha de cultivo de cholupa al año asciende a los \$13.000.000

Reemplazando estos valores en la ecuación tenemos:

$$V = S \cdot \Delta q \cdot (P - C)$$

$$V = 1 \text{ ha} \cdot 0.91 \text{ ton/ha} (\$18.000.000/\text{ton} - \$15.000.000/\text{ton})$$

$$V = \$4.550.000$$

Los gastos de producción incluyen los jornales y materiales para el cuidado del cultivo (emparrado, limpieza, abono, control de plagas, podas, riego), para 1 ha de cultivo oscilan entre \$12.000.000 y \$14.000.000. Es decir un 25.3% de la producción se debe al trabajo de las abejas.

3.4 Discusión

3.4.1 Valor de la polinización por abejas para la chamba *C. lineatifolia*

La estrategia reproductiva de *C. lineatifolia* exhibe algunas características que inciden en la aplicación de métodos de valoración de manera que los dificulta, ya que la alta producción de flores de las cuales solo un bajo porcentaje llega a formar frutos cosechables, hace que los experimentos que constituyen la base de los cálculos de dependencia y determinación de efectividad de polinización no arrojen suficientes resultados para extrapolar a escala de producción. Algunos métodos como los de Winfree *et al.* 2011 en el que se valora diferencialmente el tipo de polinizador con base en la deposición de polen, no se aplicaría en este caso dado que la floración abundante y de muy corta duración, promueve la transferencia de polen de la misma planta, lo cual no necesariamente resulta en la formación de frutos como se discutió en el capítulo 1 de este documento, aunque haya transferencia de polen e incluso formación de tubos polínicos, la probable existencia de mecanismos de aislamiento tardío no permiten que el polen transferido al estigma sea una buena medida de la efectividad polinizadora.

Uno de los ejercicios que se hacen en los trabajos sobre valoración de polinización es intentar estimar diferencialmente para los tipos de polinizadores, en principio nativas vs *Apis mellifera*, sin embargo es difícil en este caso dado que los tratamientos no arrojaron muchos datos. Además puede resultar contraproducente en algunos ámbitos darle este tipo de valor diferencial a las especies, más aun cuando se sabe que la baja frecuencia de visitantes nativos, aunque sean más eficientes que *Apis mellifera*, la especie más frecuente, se puede deber a la degradación del hábitat y entonces puede generar un efecto contrario al que se esperaría de fomentar su conservación, esta información debe manejarse con cuidado y hacer énfasis en la importancia de la actividad conjunta de las especies visitantes que actualmente componen el agroecosistema.

Para el cálculo del valor de la polinización en el caso de la chamba, se encontraron problemas debidos a la falta de uniformidad de los sistemas productivos y a procesos de cosecha, como lo anota Cruz (2014) hay diferencias considerables en cuanto a las cantidades cosechadas anualmente parte de los productores y no existen registros regulares de la producción a nivel de finca o grupo familiar, por otra parte las condiciones

ambientales y la edad son determinantes en la cantidad de frutos que puede proveer un árbol y ésta cantidad es altamente variable (López & Rodríguez 1995, Cruz 2014).

3.4.2 Valor de la polinización por abejas para la cholupa *P. maliformis*

Para la cholupa también aplicarían las restricciones de aplicación de métodos de valoración basados en polen depositado en los estigmas, ya que posee una estrategia reproductiva principalmente alógama según lo encontrado por Henao 2014, sin embargo en este caso la planta posee mecanismos morfológicos que promueven la polinización cruzada mediada principalmente por abejas.

Las abejas nativas que polinizan la cholupa en Rivera – Huila, *Eulaema cingulata*, *Xylocopa frontalis*, *Eulaema nigrita* y *Centris flavifrons* principalmente, tienen una frecuencia de visita notoriamente menor a la registrada para *Apis mellifera*, debido principalmente al carácter social de la abeja de la miel hace que las obreras recluten otras obreras de la colonia y así logran abarcar el recurso alimenticio, en contraste con las nativas que son solitarias. Otros factores que pueden estar ejerciendo alguna influencia son la fragmentación y degradación del hábitat circundante a los cultivos y la alta cantidad de aplicación de plaguicidas en el cultivo, por lo que la estimación que se realizó en el capítulo 2 del presente trabajo refleja una situación actual del agroecosistema que no necesariamente es la que ocurriría en condiciones más favorables para la fauna apoidea.

3.4.3 Consideraciones generales

Pese a las desventajas que se han atribuido a la valoración monetaria ya que no cubre el valor de algunos aspectos porque están fuera de la lógica del mercado, como los ambientales y socioculturales, es un ejercicio, que en el caso de la polinización de cultivos es de utilidad para concientizar al público general de la importancia de los polinizadores.

Algunos de los aspectos puntuales que se podrían aplicar para hacer una valoración integral de servicios ecosistémicos son, por el lado de la chamba, la importancia del aporte de las mujeres que trabajan la fruta como fuente de ingreso adicional a la

economía familiar, por el lado de la cholupa, su importancia por tener protección de denominación de origen en la reafirmación de identidad del Huila.

3.5 Conclusiones

El valor monetario calculado con base en el precio del producto comercializado por los productores y los costos promedio de mantenimiento y jornales de trabajo es de 33% del total del valor de la producción para el caso de la chamba y del 25 al 28% para la cholupa.

El presente estudio aporta una aproximación a una de las múltiples dimensiones que se pueden abordar para la valoración del servicio ecosistémico de la polinización que se puede integrar a valoraciones integrales tanto del servicio en sí, como a la valoración general de servicios de los agroecosistemas a nivel regional.

3.6 Referencias

ALLSOPP M.H., DE LANGE W.J., VELDTMAN R., 2008. Valuing insect pollination services with cost of replacement. PLoS One 3, 9.

AZQUETA D. 2002. Introducción a la Economía Ambiental. McGraw-Hill/ Interamericana de España, S.A.U. Madrid, 420 pp.

BAUER D.M., WIN I. 2010. Economic consequences of pollinator declines: a synthesis. Agricultural and resource economics review: ARER. - Newark, Del., 39 (3): 368-383

BELLO C, RUIZ –AGUDELO C.A., MADRIÑAN-VALDERAMA L.F. 2013. Aproximación a la valoración de algunos de los servicios ecosistémico de los andes colombianos, a partir de una transferencia de benéficos por meta-análisis. Capital Natural de Colombia No. 4. Conservación Internacional Colombia. Bogotá, D.C. 94p.

CASTIBLANCO C. 2003. Los métodos de valoración económica del medio ambiente: conceptos preliminares. Ensayos de economía 13 (23): 9-42.

DE GROOT R.S., 1992. Functions of Nature: evaluation of nature in environmental planning, management and decision-making. Wolters Noordhoff BV, Groningen, Holanda. 345 pp.

- CRUZ, M.P. 2014. Protocolo de aprovechamiento de la chamba (*Campomanesia lineatifolia*) en San Eduardo, Boyacá. Pp. 89-106. *En*: Torres, M.C. y L. Casas (Eds.). Protocolos de aprovechamiento para flora silvestre no maderable. Metodología, estudios de caso y recomendaciones técnicas. Fondo Biocomercio - Fundación Natura. Bogotá, D.C., Colombia. 141 p.
- DELAPLANE, K.S., MAYER D.F. 2000. Crop pollination by bees. CABI publishing. 352 pp.
- DRUCKER A.G. 2004. International Livestock Research Institute (ILRI) -Ethiopia. Economic Valuation of Bee Pollination Services: Implications for Farm Management and Policy. Workshop on Solitary Bees: Conservation, Rearing and Management for Pollination Beberibe, Ceará April 26-30.
- FREE J.B.1993. Insect pollination of crops. Academic Press, London-New York. 768 pp.
- GALLAI N. & VAISSIÈRE. 2009. Guidelines for the economic valuation of pollination services at a national scale. Rome, FAO. 11 pp.
- GOBERNACIÓN DEL HUILA. 2012. Anuario Estadístico del Sector Agropecuario del Departamento del Huila, año 2012. Secretaría de Agricultura y Minería. 305p.
- HEIN L. 2009. The Economic Value of the Pollination Service, a Review Across Scales The Open Ecology Journal (2): 74-82.
- HENAO M. 2014. Biología Floral y Reproductiva de la Cholupa. *Passiflora maliformis* (Passifloraceae). [Trabajo de Grado]. Bogotá: Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. 41 p.
- KEVAN P., PHILLIPS T.P. 2001. The economic impacts of pollinator declines: an approach to assessing the consequences. Conservation Ecology 5(1): 8. [online] URL: <http://www.consecol.org/vol5/iss1/art8/>
- KLEIN A.M., VAISSIERE B.E., CANE J.H., STEFFAN-DEWENTER I., CUNNINGHAM S.A., KREMEN C., TTSCHARNTKE T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences 274 (1608), 303–313.
- LÓPEZ M., RODRÍGUEZ J. 1995. Diagnóstico del mercadeo de la champa en el Municipio de Miraflores Boyacá. Trabajo de grado para optar al título de Tecnólogo en

Mercadeo. Instituto de Educación Abierta y a distancia. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja. 86 p.

LOSEY J.E., VAUGHAN M. 2006. The Economic Value of Ecological Services Provided by Insects Bioscience 56 (4): 311-323

MBURU J., HEIN L.G., GEMMILL B., COLLETTE L.. 2006. Economic Valuation of pollination services: Review of methods. Food and Agriculture Organization . 43 pp.

MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT (MA). 2003. Living Beyond Our Means: Natural Assets and Human Well-being. Statement from the Board. Washington D. C.: Island Press. 28p.

MONTEALEGRE R. 2013. Experiencia exitosa en el sistema productivo de cholupa (*Passiflora maliformis* L.) Memorias II Congreso Latinoamericano de Pasiflora. Neiva-Huila-Colombia. p 146.

MORSE R.A., CALDERONE N.W. 2000. The value of honey bees as pollinators of US crops in Bee Culture 128 (3).

NE'EMAN, G., JÜRGENS A., NEWSTROM-LLOYD L., POTTS S.G., DAFNI A. 2010. A framework for comparing pollinator performance: effectiveness and efficiency. Biological Reviews. 85, (3): 435–451

PROCTOR M. YEO P., LACK A. 1996. The natural history of pollination. Timber Press. Oregon. USA. 479 pp.

RICKETTS T.H., DAILY G.C., EHRLICH P.R., MICHENER C.D. 2004. Economic value of tropical forest to coffee production. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 101: 12579 -12582.

ROBINSON W.S., NOWOGRODZKI R., MORSE R.A. 1989. The value of honey bees as pollinators of US crops. II. American Bee Journal (USA) 129 (6), 411–423.

WINFREE R., GROSS B.J., KREMEN C. 2011. Valuing pollination services to agriculture. Ecological Economics, 2011, (71) 80–88.

4. Recomendaciones

Con respecto a la estrategia reproductiva de *C. lineatifolia*, se generan varios interrogantes que valdría la pena abordar en estudios posteriores, por ejemplo ¿cuáles son los mecanismos que posee la especie para contrarrestar la autopolinización generada por el tipo de fenología de la floración?, ¿Qué importancia tiene para la planta el comportamiento de zumbido de *Melipona* spp en la recolección de polen?

Para la cholupa un tema interesante sería establecer si la estrategia reproductiva tiene algún patrón de cambio dependiendo de la localidad como respuesta de las poblaciones a variables ambientales.

Se recomienda promover los estudios de valoración con otras plantas de interés comercial para contribuir a la divulgación de la importancia de la polinización y de conservar a los miembros de la interacción y a los hábitats que la sostienen.

Dado que la valoración monetaria por si sola presenta falencias para ser empleada como único criterio para la toma de decisiones, se espera que este estudio aporte bases para realizar una valoración más integral.

Para los agroecosistemas donde se encuentra la Chamba *C. lineatifolia*, la conservación de abejas nativas del género *Melipona* juega un papel importante ya que también son polinizadoras de cultivos como el café y los cítricos, que son importantes en la economía local; además estas abejas poseen un gran potencial para el desarrollo de la meliponicultura en la región.

Las abejas silvestres que visitan a *P. maliformis* y que presentan condiciones adecuadas para su polinización, son abejas que necesitan lugares particulares para nidificar, como madera disponible para hacer galerías, zonas de suelo no sometido a pisoteo y con condiciones de drenaje particulares para hacer sus túneles subterráneos, presencia de plantas que les provean resinas y aceites para impermeabilizar sus celdas de cría y proteger sus nidos. Por ejemplo las abejas de los géneros *Centris* y *Epicharis*, que son recolectoras de aceites de la malpigíaceas, requieren de estas plantas que son

principalmente componentes importantes de zonas en regeneración sucesional, los Euglosinos, requieren para su complejo comportamiento reproductivo, especies de orquídeas, aráceas y otras plantas de zonas húmedas, conservadas y en algunos casos de hábito trepador o epífita, es decir de zonas con componente arbóreo que las soporte. Por esta razón se hace necesario hacer énfasis en la conservación y promoción de sitios de nidificación y obtención de recursos para estas abejas ya que la relación planta – polinizador en este frutal se ve afectado no solamente por la problemática de la aplicación de plaguicidas y sistemas de riego, sino por la pérdida de hábitats que les provean refugio, recursos de nidificación y recursos alimenticios alternos a los ofrecidos por la cholupa.

Estos resultados no cumplirían su efecto sin la divulgación pertinente, para esto se desarrollaron estrategias de socialización como la elaboración de una cartilla que será distribuida a productores de estos frutales, a apicultores y criadores de abejas nativas y a la comunidad interesada en general, sin embargo el trabajo con polinizadores tiene potencial para el trabajo participativo que resultaría en el fomento *in situ* de prácticas amigables con los polinizadores al poner en evidencia los efectos positivos de la polinización natural y los riesgos que se corren si ésta no se promueve.

ANEXO: Formulario de encuesta para el registro de datos para la valoración económica de la polinización de chamba y cholupa.

No. Encuesta	Fecha	Encuestador			Frutal	Datos generales encuesta
Departamento	Municipio	Vereda	Finca			
Nombre del productor	Edad	Profesión			sus ingresos dependen del frutal?	Información socioeconómica
Propiedad	Propietario	Administrador	Arrendatario	Otro		
Cultivo o actividad principal	Otras actividades	pertenece a alguna asociación de productores				
Edad frutal	Abono orgánico	Plaguicida	Herbicida o matamaleza	Fertilizante químico	Fungicida	Manejo de cultivos
Riego	Poda	otro	ROTACIÓN	ASOCIACIÓN	BARRERAS	
CORREDORES BIOLÓGICOS	MANEJO DEL SUELO	HUERTOS-JARDINES-VIVEROS	FAUNA	FLORA	Asesoría?	
Actividad	Personal	tiempo	materiales	transporte		Costos de producción
Preparación de las plántulas						
ARRENDAMIENTO TERRENO						
PREPARACION DEL SUELO						
DISTANCIAMIENTOS						
FERTILIZACIÓN						
RIEGOS						
CONDUCCIÓN DE LA PLANTA						
DESBROTE O "DESCHUPONADO"						
PODAS						
Control de malezas						
Plagas						
Enfermedades						
COSECHA Y POST COSECHA						
Almacenamiento						
Transformación						
Comercialización						
ÁREA DE CULTIVO O ZONA DE RECOLECCIÓN	NÚMERO DE PLANTAS FRUCTIFICANDO		Distancia entre plantas		Técnica de cosecha	PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN
FECHAS DE COSECHA (FRECUENCIA)		Medida de cosecha y equivalente en kg y/o # frutos		cantidad cosechada		
Lugar de comercialización	parte comercializada	Precio mínimo en tiempo de cosecha	Precio máximo en tiempo de cosecha	Precio mínimo en tiempo de no cosecha	Precio máximo en tiempo de no cosecha	

A. ANEXO: Síntesis de información referente a producción y costos de producción, obtenida a partir de las entrevistas a los productores de Chamba.

PRODUCTOR	Municipio	Vereda	PLANTAS EN PRODUCCIÓN	Mantenimiento: número de jornales / año *	Recolección número de jornales / año	Transformación a pulpa: número de jornales / año	Producción de fruta aproximada en Kg	Precio mínimo (bolsa 1 kg) al mercado	Precio máximo (bolsa 1 kg) al mercado
Luz Obando	Miraflores	Miraflores	20	1	30	30	1800	2000	3000
Nury Guerrero	Miraflores	Miraflores	148	13	135	135	14175	1000	4000
Lucila López	Miraflores	Pueblo y Cajón	±20	1	45	45	2700	2000	3000
Inés López	Miraflores	Ayatá	±25	1	30	30	3150	2000	3000
Irene camacho	Berbeo	Centro	±20	1	36	36	3240	1000	3000
Virginia Guerrero	Miraflores	El Rodeo	23	1	15	15	2700	1000	3000
Héctor Maldonado	Miraflores	El Rodeo	10	1	45	45	4050	1000	4000

*El valor del jornal actualmente es de \$25.000

B. ANEXO: Síntesis de información referente a producción y costos de producción, obtenida a partir de las entrevistas a los productores de Cholupa.

PRODUCTOR	Municipio	Vereda	Mantenimiento: costo aproximado de jornales/año	Recolección costo aproximado de jornales/ año	Costo aproximado de Insumos y suministros/ año	Arriendo de terreno / año	Producción de fruta aproximada en toneladas	Precio mínimo (bolsa 1 kg) al mercado	Precio máximo (bolsa 1 kg) al mercado
Arturo Pascua	Rivera	Bajo Pedregal	1575000	2400000	10000000	1000000	12	12000	25000
Ramiro Perdomo	Rivera	Bajo Pedregal	2100000	2250000	8000000	1000000	15	10000	28000
Ricardo Montealegre	Rivera	Riverita	2500000	4500000	9500000	1200000	15	7000	24000
Carlos Gasca	Rivera	Los Medios	2000000	2500000	8000000	1000000	10	10000	20000
Carlos Tovar	Rivera	Alto Pedregal	1800000	2250000	8000000	1000000	15	10000	25000
Ricardo Rojas	Rivera	Bajo Pedregal	2000000	300000	9800000	1000000	10	12000	25000

*Valores estimados para 1 ha

**El valor del jornal actualmente es de \$25.000