

Utilización de abejorros nativos (*Bombus atratus* Franklin y *Bombus bellicosus* Smith) para mejorar la producción de semillas del trébol rojo (*Trifolium pratense*)

Salvarrey Sheena¹, Arbulo Natalia², Rossi Carlos³, Santos Estela¹, Salvarrey Luis⁴, Invernizzi Ciro¹

¹ Universidad de la República, Facultad de Ciencias. Iguá 4225, 11400 Montevideo, Uruguay. Correo electrónico: lepetite22@gmail.com

² Universidad de la República, Centro Universitario Regional Este (CURE). Rutas 9 y 15, 27000 Rocha, Uruguay.

³ Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) La Estanzuela. Ruta 50 km 11, 70000 Colonia, Uruguay.

⁴ Universidad de la República, Centro Regional Norte. Rivera 1350, 50000 Salto, Uruguay.

Recibido: 2016-05-25 Aceptado: 2017-04-26

Resumen

En Uruguay la producción histórica de semillas de trébol rojo (*Trifolium pratense*) está ligeramente por encima de los 100 kg/ha. Este bajo valor puede ser explicado por la dificultad de polinización en esta especie. El objetivo de este estudio fue evaluar la producción de semillas de trébol rojo bajo condiciones de campo utilizando los abejorros nativos *Bombus atratus* y *Bombus bellicosus* como polinizadores principales. En este trabajo se utilizó un semillero de trébol rojo de 250 x 200 m en segunda floración, sembrado con el cultivar Estanzuela 116. En febrero del 2010, siete colonias de *Bombus atratus* y tres de *Bombus bellicosus* (media \pm DE: 99 \pm 36 individuos) fueron ubicados a lo largo de un lado del semillero. Se establecieron 25 parcelas experimentales de 5 x 2 m a diferentes distancias desde la ubicación de los nidos. En abril se cosecharon las semillas de trébol rojo de cada parcela y se calcularon varios indicadores del rendimiento de semillas. La proporción media de semillas por flor en una inflorescencia fue de 64,4 %, valor superior al máximo reportado en Uruguay (62 %), pero no se encontró una correlación entre este indicador y la presencia de abejorros. En cambio, se encontró que el número de abejorros está asociado con el número de inflorescencias maduras/m², el número de inflorescencias/m² y la producción de semillas (g/m²). Estos resultados muestran la factibilidad de obtener un buen rendimiento de semillas de trébol rojo en Uruguay utilizando a los abejorros nativos.

Palabras clave: polinización, *Bombus* spp., leguminosa, Uruguay

Use of Native Bumblebees (*Bombus atratus* Franklin and *Bombus bellicosus* Smith) to Improve Seed Production of Red Clover (*Trifolium pratense*)

Summary

In Uruguay the historical production of red clover seeds (*Trifolium pratense*) is slightly over 100 kg/ha. This low value can be explained by the difficulty of pollination in this species. The aim of this study was to assess the red clover seed yield under field conditions using native bumblebees *Bombus atratus* and *Bombus bellicosus* as main pollinators. In this work, we used a red clover field of 250 x 200 m planted with cultivar Estanzuela 116 in its second bloom. In February 2010, seven colonies of

Bombus atratus and three of *Bombus bellicosus* (mean \pm SD: 99 ± 36 individuals) were located along one side of the field. Twenty five experimental plots of 5 x 2 m were established at different distances from the nests. In April, red clover seed from each plot was harvested and seed yield indicators were calculated. The average proportion of seeds per flower of the inflorescence was 64.4 %, higher than the maximum reported in Uruguay (62 %), but no correlation was found between this indicator and the presence of bumblebees. However, it was found that the number of bumblebees was associated with the number of mature inflorescence/m², the number of inflorescences/m² and seed yield (g/m²). These results show the feasibility of obtaining good yield of red clover seeds in Uruguay using the native bumblebees.

Keywords: pollination, *Bombus* spp., leguminous, Uruguay

Introducción

El trébol rojo (*Trifolium pratense*) es una de las leguminosas forrajeras más utilizadas en el mundo. Es importante no solo como forrajera en pastoreo directo, henificación y ensilaje, sino también como mejoradora del suelo, abono verde y como melífera (Taylor y Quesenberry, 1996). En Uruguay se cultiva extensamente, siendo una de las especies de leguminosas preferidas para las praderas mixtas artificiales, sobre todo en la zona sur y litoral del país (Izaguirre y Beyhaut, 1998). Según datos de Instituto Nacional de Semillas de Uruguay entre los años 2005 y 2015 se utilizaron 11609 toneladas de semillas de trébol rojo, de las cuales 33,8 % fueron importadas (INASE, 2016). Esto último se debe en parte a que en el país la producción de semillas se encara generalmente como un rubro accesorio en la producción agropecuaria y solo una pequeña fracción de los productores la utilizan como rubro principal (García et al., 1991). Adicionalmente, el promedio nacional de producción de semilla de trébol rojo es de 119 kg/ha con un rango de 45 a 255 kg/ha (García et al., 1991), valores muy por debajo del potencial agrícola realizable de la especie que corresponde a 650 kg/ha (Formoso, 2010).

Para aumentar la producción de semillas de trébol rojo en Uruguay es necesario generar tecnologías adecuadas. Entre esas tecnologías le cabe un rol protagónico a la polinización entomófila ya que frecuentemente es el factor responsable de limitar la producción de semillas en este cultivo (Holm, 1966; Free, 1993; Taylor y Quesenberry, 1996; Rao y Stephen, 2010). Para el trébol rojo, igual que para otras leguminosas forrajeras, los únicos polinizadores considerados de importancia son las abejas (Hymenoptera: Apoidea) (Free, 1993; Goulson, 2003; Heinrich, 2004). Dentro de este grupo, se destacan las abejas melíferas (*Apis mellifera*), el insecto polinizador más utilizado en el mundo, y los abejorros (*Bombus* spp.) (Bohart, 1957; Holm, 1966;

Plowright y Hartling, 1981; Free, 1993; Goulson, 2003; Heinrich, 2004; Rao y Stephen, 2009).

El 85 % de los productores uruguayos de semillas de trébol rojo utilizan colmenas de abejas melíferas para la polinización del cultivo. Colocando una media de dos colmenas por hectárea, obtienen un rendimiento de semillas promedio levemente mayor al obtenido sin colocar colmenas (120 kg/ha y 105 kg/ha, respectivamente) pero aún bastante menor que el potencial de la especie (García et al., 1991). Esto sugiere que las abejas melíferas no polinizan satisfactoriamente al trébol rojo en Uruguay.

Los abejorros del género *Bombus* son insectos primitivamente eusociales, que presentan un ciclo anual (Michener, 2007). El género está ampliamente distribuido en las regiones Holártica, Oriental y Neotropical del mundo (Cameron y Williams, 2003). En Uruguay están presentes dos especies, *Bombus atratus* y *Bombus bellicosus*, que son comúnmente encontradas en diferentes regiones del país desde octubre a marzo (Arbulo et al., 2011).

Dado que muchas especies de *Bombus* poseen probóscides largas y por tanto pueden alcanzar el néctar del trébol rojo con facilidad, esta leguminosa representa una fuente importante de alimento para estos insectos (Goulson, 2003; Heinrich, 2004; Michener, 2007). Según Arbulo et al. (2011), tanto *B. atratus* como *B. bellicosus* tienen probóscides mayores a 7 mm, longitud considerada suficiente para alcanzar el néctar de trébol rojo (Holm, 1966).

En Uruguay, la presencia de estas dos especies nativas de *Bombus* ofrece la posibilidad de utilizar polinizadores más eficientes para incrementar los rendimientos de semilla del trébol rojo. Varela y Rebuffo (1999) realizaron un conjunto de experiencias de polinización de trébol rojo con *B. bellicosus* obteniendo resultados auspiciosos. Utilizando pequeños invernáculos de 135 m² encontraron que los abejorros son mejores polinizadores que las abejas melíferas. En una experiencia a campo obtuvieron un rendimiento promedio de semillas significativamente superior al promedio nacional (370 kg/ha).

En otro estudio verificaron que la producción de semilla por hectárea disminuyó al aumentar la distancia a las colonias de abejorros (Varela y Rebuffo, 1999).

El presente estudio fue dirigido para evaluar el rendimiento de semillas del trébol rojo en condiciones de campo utilizando los abejorros nativos *B. atratus* y *B. bellicosus* como principales polinizadores. La población de abejorros presente en un cultivo de trébol rojo fue incrementada experimentalmente y se analizó la relación entre la presencia de estos insectos y varios indicadores de rendimiento de semillas.

Materiales y métodos

Aspectos generales

Las actividades de campo se realizaron durante los meses de marzo y abril de 2010, en La Estación Experimental La Estanzuela del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA-LE) ubicada en el departamento de Colonia (34° 20' S, 57° 41' W). Se utilizó un semillero de trébol rojo de 200 x 250 m, sembrado con el cultivar Estanzuela 116, que había comenzado su segunda floración en torno al 20 de febrero. El estudio no se pudo hacer durante la primera floración porque no coincide completamente con el pico poblacional de abejorros, que corresponde a los meses de marzo y abril. Dos semanas antes de comenzar el trabajo en el semillero, se realizaron las tareas de búsqueda y transferencia de nidos de abejorros a cajas-nido de madera (0,20 x 0,30 x 0,20 m). Los nidos se dejaron al menos un día en el lugar donde se encontraba la colonia trasegada para no perder las obreras que se encontraban en el campo y para que los individuos se adaptasen a las cajas. La noche previa al traslado de las colonias al semillero (4 de marzo) las cajas se cerraron para evitar la pérdida de pecoreadoras. El marcado de las parcelas experimentales (2 x 5 m) en el semillero se realizó la semana previa al inicio del trabajo. Durante el período de estudio, los diferentes registros en el semillero se llevaron a cabo los días: 6, 12, 17, 22, 27 y 31 de marzo y 7 de abril. El día 12 de abril se realizó la cosecha del semillero. Las tareas de laboratorio para determinar el rendimiento de semillas se realizaron en el Laboratorio de Semillas de INIA-LE.

Nidos de abejorros y parcelas experimentales

Durante el mes de febrero se encontraron siete colonias de *B. atratus* (con un promedio de 80 individuos) y tres de *B. bellicosus* (con un promedio de 106 individuos) que fue-

ron trasladadas al semillero y colocadas a lo largo de uno de los lados del mismo con la entrada dirigida hacia el cultivo. Esto permitió incrementar la población de abejorros presentes en la pradera para poder evaluar su efecto como polinizadores del trébol rojo.

Para evaluar posibles efectos de la distancia a los nidos de abejorros, como sugieren estudios previos (Varela y Rebuffo, 1999), se ubicaron cinco réplicas de las parcelas a 40, 80, 120, 160 y 200 metros desde la ubicación de los nidos, totalizando 25 parcelas experimentales.

El día 4 de marzo, antes de iniciar los registros de presencia de abejorros, se eliminaron de las parcelas experimentales todas las inflorescencias maduras (aquellas que ya habían semillado o estaban marchitas, caracterizadas por una coloración marrón). Las inflorescencias que poseían más del 25 % de la cabezuela con flores de color rosado fuerte (flores inmaduras o receptivas, que son atractivas para los abejorros) fueron contadas en cada día de registro de la actividad de los abejorros en la pradera.

Actividad de los abejorros

La actividad de los abejorros sobre la pradera se evaluó en tres momentos del día durante todo el período de estudio: mañana (8-12 horas), mediodía (13-16 h) y tarde (17-20 h). En cada parcela, de forma aleatoria, en un período de tres minutos, se registró el número de abejorros de cada especie que se encontraban pecoreando. Adicionalmente, se registró información sobre otros insectos (número y grupo taxonómico) observados pecoreando durante ese período.

De forma complementaria, se determinó la abundancia de abejorros en cuatro transectas ubicadas entre las parcelas a una distancia entre ellas de 10 m, desde los nidos al extremo final del semillero. Las transectas fueron recorridas a velocidad constante por un solo observador, registrando presencia y especie de los abejorros observados. Por otro lado, en los días que se registró la actividad de los abejorros durante la noche se evaluó el tamaño y las condiciones de los nidos de utilizados (presencia de hongos, higiene, etc.).

Rendimiento del cultivo

El 12 de abril se cosecharon las semillas del trébol rojo. Se lanzaron al azar dos cuadrantes de 0,5 x 0,5 m uno hacia el lado izquierdo y otro hacia el lado derecho desde el centro de uno de los laterales de cada parcela. En la superficie encerrada en el cuadrante, se contó el número de inflorescencias maduras e inmaduras, descartándose estas últimas.

De cada parcela se tomaron al azar 10 cabezuelas maduras que fueron trilladas individualmente y sobre las cuales se realizaron las determinaciones de los componentes de rendimiento a nivel de las inflorescencias (número de semillas y número de flores por cabezuela). En base a esos valores, se determinó el número de semillas por número de flores (cuajado).

El resto de las inflorescencias provenientes de los cuadrantes muestreados se trillaron y las semillas se limpiaron utilizando cribas y un Blower, descartando las semillas inmaduras. Las semillas limpias obtenidas se pesaron para determinar el rendimiento de semillas (g/m^2) y, usando cuatro repeticiones de 100 semillas, se determinó el peso de 1000 de las semillas.

Análisis estadísticos

Para el análisis estadístico se utilizó el sistema SAS. Se tomó como base para el análisis un Modelo Lineal Generalizado (PROC GLM). En etapas posteriores se utilizó el PROC MIXED (Modelo Lineal Mixto) cuando el análisis consideró algunos efectos como aleatorios. Adicionalmente, se utilizó el PROC GENMOD (Modelo Lineal Generalizado) cuando las variables no cumplían los supuestos del análisis PROC GLM, generalmente debido a que los datos son mayoritariamente de conteo.

La distribución de los abejorros en función de la distancia a los nidos se analizó con los registros de las parcelas y las transectas por separado, utilizando un Modelo Lineal General (GLM) en el que se consideró a las distancias como variables cualitativas y se incluyó la

fecha y la interacción fecha por distancia. De igual forma, se analizó la presencia de otros polinizadores a lo largo del periodo de estudio.

La asociación entre los diferentes indicadores de rendimiento de semillas y la presencia de abejorros se realizó utilizando el Coeficiente de Correlación de Pearson (PROC CORR).

En todos los análisis estadísticos se consideraron diferencias significativas cuando P fue menor a 0,05.

Resultados

Tamaño de las colonias

La población inicial de las 10 colonias colocadas en el semillero varió entre 50 y 150 individuos (media \pm DS: 99 ± 36). La población del conjunto de las colonias se redujo en torno al 50 % en los 10 días siguientes a su instalación. Sin embargo, luego de esta reducción inicial la población se mantuvo estable durante todo el periodo de estudio.

Evolución de las inflorescencias atractivas para los insectos

El número promedio de inflorescencias de trébol rojo atractivo para los insectos incrementó en forma sostenida entre el 6 y el 31 de marzo, pasando de 8,9 a 68,5 inflorescencias/ m^2 (Figura 1). Luego del 31 de marzo el número de inflorescencias atractivas experimentó una disminución importante llegando a 53 inflorescencias/ m^2 el día 7 de abril (Figura 1).

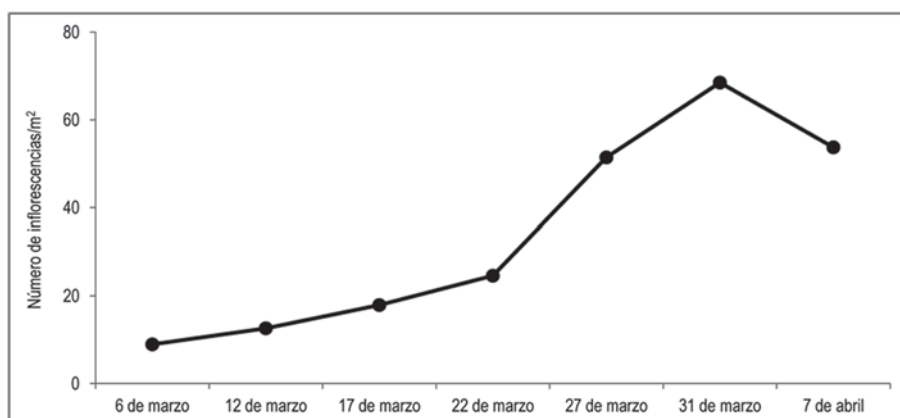


Figura 1. Número de inflorescencias atractivas de trébol rojo (rosado fuerte) a lo largo del periodo de estudio. Cada punto resulta de calcular el número de inflorescencias por metro cuadrado usando el número promedio de inflorescencias en las 25 parcelas experimentales (2 x 5 m) para cada fecha

Presencia de los abejorros en la pradera

El efecto de la distancia a los nidos en la distribución de los abejorros en la pradera mostró resultados diferentes entre las parcelas y las transectas. En las parcelas no se encontró relación en la densidad de abejorros con la distan-

cia a los nidos al analizar las dos especies juntas ($F = 1,39$; $P = 0,24$) ni separadas (*B. atratus* $F = 1,41$; $P = 0,22$; *B. bellicosus* $F = 0,39$; $P = 0,82$) (Figura 2A). En cambio, cuando se analizaron los datos de las transectas se encontró que la distribución variaba con la distancia pero no de forma lineal ($F = 6,72$; $P < 0,001$). El mayor número de

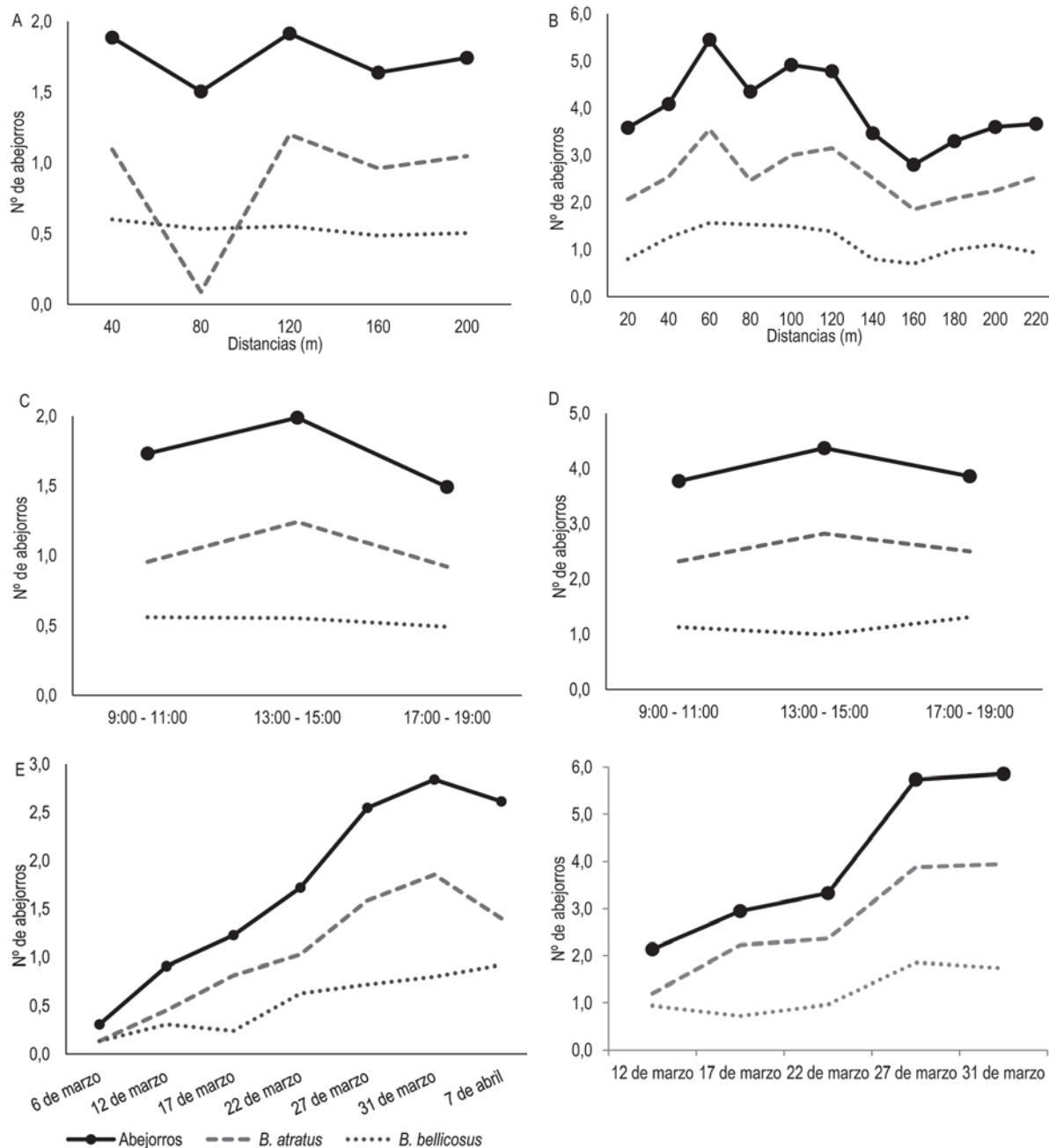


Figura 2. Abundancia de abejorros (número promedio de individuos) en las parcelas (izquierda) y las transectas (derecha) en relación a la distancia a los nidos (A, B), el momento del día (C, D) y la fecha (E, F).

abejorros se encontró a 60 m de los nidos y el mínimo a 160 m, siendo la diferencia de casi 50 % (Figura 2B). Esta tendencia también se observó al analizar cada especie de abejorros por separado (*B. atratus* $F = 6,41$; $P < 0,001$; *B. bellicosus* $F = 6,14$; $P < 0,001$) aunque fue más notoria en *B. atratus* (Figura 2B).

En relación al efecto del horario en la distribución de los abejorros, los registros mostraron que la mayor cantidad de individuos se concentraba en horas del mediodía. Esta tendencia se observó en las parcelas ($F = 4,89$; $P = 0,008$) y en las transectas ($F = 14,36$; $P < 0,001$) cuando las especies se analizaron juntas (Figura 2C, D). No obstante, al analizar las especies por separado, la densidad de *B. atratus* se relacionó con el horario, siendo mayor al mediodía ($F = 4,96$; $P = 0,007$ en las parcelas; $F = 8,17$; $P = 0,0003$ en las transectas), mientras que la densidad de *B. bellicosus* no mostró diferencias a lo largo del día ($F = 0,48$; $P = 0,62$ en las parcelas; $F = 1,27$; $P = 0,28$ en las transectas) (Figura 2C, D).

La densidad total de abejorros en el semillero incrementó fuertemente a lo largo del período de estudio ($F = 31,84$; $P < 0,0001$ en las parcelas; $F = 79,81$; $P < 0,001$ en las transectas) (Figura 2E, F). El mismo resultado se obtuvo al analizar las dos especies de abejorros por separado: *B. atratus* ($F = 26,51$; $P < 0,001$ en las parcelas; $F = 74,11$; $P < 0,001$ en las transectas) y *B. bellicosus* ($F = 13,26$; $P < 0,001$ en las parcelas; $F = 30,17$; $P < 0,001$ en las transectas) (Figura 2E, F). Los registros de las transectas muestran que el principal incremento en la densidad de los abejorros ocurrió entre el 22 y el 27 de marzo (Figura 2E, F).

El número de individuos de *B. atratus* fue mayor que el de *B. bellicosus* a lo largo del período de estudio, excepto el primer día de registro en el cual ambas especies estaban presentes en la misma proporción (Figura 2E, F).

Se analizó la presencia de abejorros en la pradera en relación con el número de inflorescencias atractivas presentes en las parcelas encontrándose una asociación de acuerdo a la función: $y = 0,01x + 1,2393$ ($F = 162,32$; $P < 0,001$).

Otros insectos presentes en la pradera

Diversos insectos pertenecientes a Hymenoptera, Lepidoptera y Diptera fueron registrados forrajeando en las flores trébol rojo a lo largo del período de estudio. Los lepidópteros fueron los más abundantes durante la primera mitad del mes de marzo, especialmente *Colias lesbia* (Pieridae). Durante el resto del estudio, los abejorros fueron los insectos predominantes en el semillero. El tercer insecto más

abundante fue la abeja melífera y luego algunas especies de abejas solitarias como *Xylocopa augusti* y *X. artifex*. Estas dos últimas especies fueron agrupadas junto a otras especies de himenópteros de baja abundancia en la categoría «otros himenópteros» (Figura 3).

El 22 de marzo, la densidad de los distintos insectos en la pradera cambió (Figura 3). A partir de esa fecha la presencia de *A. mellifera* ($F = 7,37$; $P < 0,001$) y de otros himenópteros ($F = 24,79$; $P < 0,001$) aumentó significativamente, mientras que la densidad de lepidópteros disminuyó significativamente ($F = 13,89$; $P < 0,001$). Los dípteros estuvieron presentes en muy baja proporción durante todo el período de estudio pero aumentaron levemente hacia el final del mismo ($F = 2,26$; $P = 0,0366$) (Figura 3).

Rendimiento del cultivo

Para cada una de las 25 parcelas experimentales se calcularon indicadores de rendimiento de la producción de semillas. No se encontró ninguna asociación entre el número de abejorros y las semillas/inflorescencia ($\rho = 0,134$; $P = 0,52$) o el peso de 1000 semillas ($\rho = 0,04$; $P = 0,85$). No obstante, se encontraron asociaciones significativas entre el número de abejorros y otros indicadores de rendimiento: número de inflorescencias maduras/m² ($\rho = 0,394$; $P = 0,05$), número de inflorescencias/m² ($\rho = 0,421$; $P = 0,04$) y rendimiento de semillas (g/m²) ($\rho = 0,430$; $P = 0,03$). La correlación entre el número de abejorros y el rendimiento de semillas (g/m²) siguió la función de regresión: Rendimiento = $1,06 + (0,57 \times N^\circ \text{ abejorros})$. Esto significa que por cada dos abejorros que visitaron la parcela, el rendimiento de semillas (g/m²) se incrementó en una unidad.

Discusión

Tamaño de las colonias de abejorros

El tamaño de las colonias de abejorros trasladadas al semillero fue variable pero no superó en ningún caso los 150 individuos, aunque *B. atratus* y *B. bellicosus* pueden formar colonias con hasta 400 individuos (Goulson, 2003). La población de estas colonias estuvo determinada por su tamaño al momento de ser extraídas de su ubicación original y por las pérdidas durante el proceso de trasiego. En ese proceso, inevitablemente algunas obreras fueron dañadas o murieron y algunas pecoreadoras quedaron en el campo. Adicionalmente, como consecuencia del traslado, algunas pecoreadoras

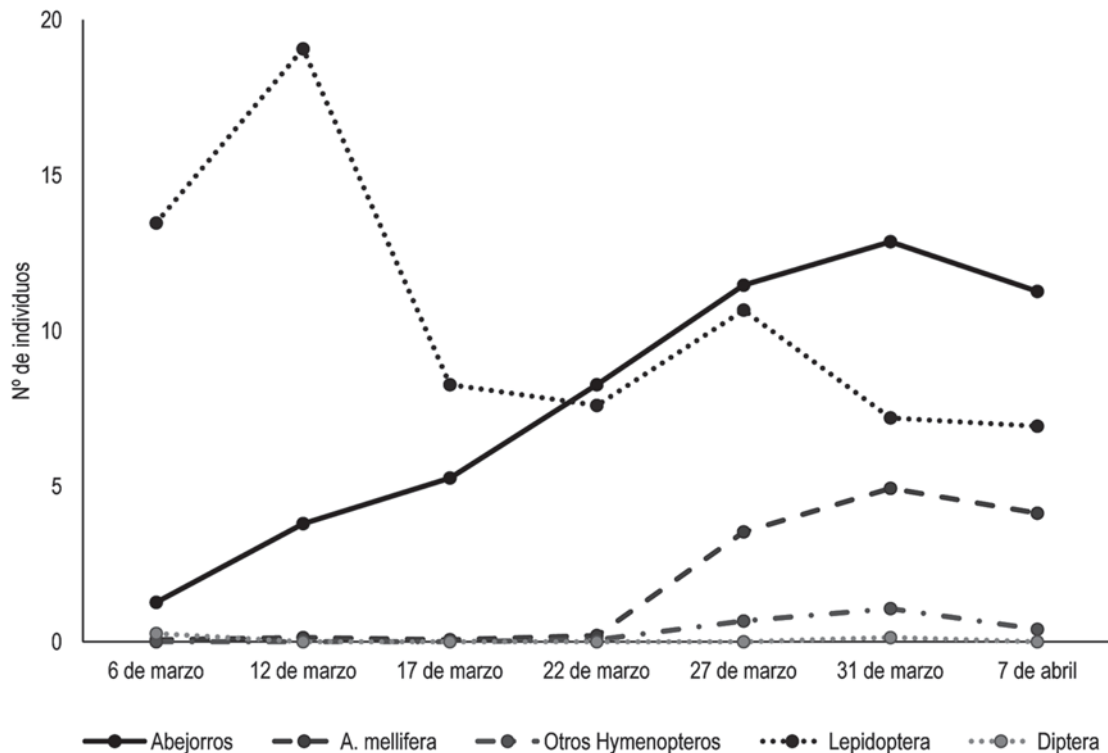


Figura 3. Insectos observados pecoreando en las flores de trébol rojo en las parcelas experimentales a lo largo del período de estudio.

probablemente se perdieron ya que no lograron orientarse en el nuevo emplazamiento y no consiguieron regresar a sus nidos. La pérdida de obreras experimentada en los primeros días luego de instaladas las colonias en el semillero de trébol rojo (50 % aproximadamente) es un factor a tener en cuenta al momento de recomendar el número óptimo de abejorros por hectárea que deberían ser llevados al cultivo para que la polinización sea eficiente.

A lo largo del período de estudio el tamaño de las colonias (luego de la instalación en el semillero) presentó variaciones que pueden ser explicadas por las tasas de nacimiento y muerte de las obreras. De todos modos, considerando globalmente la población de todas las colonias, no hubo variaciones importantes en el número de abejorros dentro de los nidos o en la proporción entre *B. atratus* y *B. bellicosus*.

Presencia de abejorros en el semillero

Varela y Rebuffo (1999) encontraron que la producción de semillas de trébol rojo disminuía al aumentar la distancia a los nidos de abejorros, lo que sugiere la existencia de un

gradiente de distribución de los insectos. En el presente estudio, el análisis de los datos tanto de las transectas como de las parcelas (medias ajustadas a las variables distancia y horario) no mostró un gradiente en la distribución de los abejorros desde la ubicación de los nidos al extremo opuesto del semillero como se esperaba. Sin embargo, no se puede descartar la existencia de tal gradiente en la distribución de los abejorros provenientes de las colonias experimentales, el cual pudo estar enmascarado por la presencia de abejorros provenientes de nidos naturales cercanos al semillero.

La mayor concentración de *B. atratus* sobre el semillero se observó entre las 13.00 y 16.00 horas, mientras que la presencia de *B. bellicosus* se mantuvo sin cambios a lo largo del día. La elección de recursos a explotar en diferentes momentos del día está determinada principalmente por el suministro de néctar y polen de diversas especies botánicas disponibles en el radio de vuelo de los abejorros (Goulson, 2003). La presencia de flora competitiva es un aspecto fundamental que condiciona la eficacia en la polinización entomófila de un cultivo (Peterson, Furgala y Holdaway, 1960; Palmer-Jones Forster y Clinch, 1966; Corbella et al.,

1995). En este estudio, se observó que durante la mañana los abejorros recolectaban una mayor proporción de polen de solanáceas ubicadas en las cercanías del semillero. Esto podría explicar la presencia reducida de *B. atratus* en el semillero de trébol rojo en ese momento del día.

Los registros de abejorros en las transectas indican que aunque no hubo un gradiente de distribución de un extremo al otro, los abejorros no se distribuyeron de manera homogénea en el semillero (Figura 2B). Su distribución estuvo determinada por la variación en la densidad de inflorescencias atractivas en distintas zonas del semillero (Figura 1 vs Figura 2E).

Otros insectos presentes en el semillero

La presencia significativa de mariposas de la familia Pieridae, especialmente *Colias lesbia*, en la primera mitad del período de estudio podría deberse a que los adultos de este grupo comúnmente aparecen de forma explosiva en ciertos momentos en cultivos de leguminosas, plantas de las cuales se alimentan sus larvas (Bentancour y Scatoni, 2006). De acuerdo con Free (1993), únicamente las abejas melíferas, los abejorros y otras pocas especies de abejas solitarias son capaces de polinizar eficientemente el trébol rojo. La contribución de *C. lesbia* a la polinización de trébol rojo durante sus visitas para alimentarse del néctar probablemente es irrelevante.

Llamativamente, las abejas melíferas fueron observadas en baja frecuencia en el semillero de trébol rojo a pesar de que a 700 m se encontraba un apiario de 25 colmenas y no había ningún otro cultivo importante de valor apícola en las inmediaciones. Aunque esta especie en ciertas condiciones es considerada un polinizador eficiente de trébol rojo, su baja frecuencia y dos aspectos de su comportamiento pecoreador observado en este estudio sugieren que su contribución en la producción de semillas seguramente no fue relevante. En primer lugar, se encontró que el número de flores visitadas por las abejas por unidad de tiempo es aproximadamente un tercio que el que visitan las dos especies de abejorros. En segundo lugar, se observó que muchas de las abejas acceden a la flor por el costado sin contactar las estructuras reproductivas y por tanto no aportarían en la polinización del cultivo (Sheena Salvarrey, datos no publicados). Los problemas de las abejas melíferas para polinizar el trébol rojo en Uruguay había sido verificada por Formoso (2010) quien no consiguió superar los 54 kg/ha de semillas aun utilizando 10 colmenas/ha. Un aspecto relevante en este sentido es la dificultad que tie-

nen para acceder al néctar del trébol rojo debido a la profundidad de la corola de sus flores (McGregor, 1976; Corbella et al., 1995). Esto último podría explicar la escasa presencia de abejas en el semillero de trébol rojo.

Rendimiento de semillas

En general, el análisis de rendimiento en la producción de semillas de trébol rojo se realiza a partir de cultivos en primera floración (Peterson, Furgala y Holdaway, 1960). El presente estudio se llevó a cabo en un semillero de trébol rojo que se encontraba en su segunda floración, lo que explica por qué algunos valores de los componentes de rendimiento difirieron de los reportados en la literatura. Esto fue particularmente importante para aquellos indicadores que dependen del estado de la planta y de las condiciones ambientales, tales como el número de inflorescencias/m², el número de flores por inflorescencia y el peso de 1000 semillas (Formoso, 2010). El número de inflorescencias/m² fue mucho menor que el reportado por Formoso (2010) para una primera floración (700 inflorescencias/m²). Por otro lado, el número de flores por inflorescencia fue mayor al máximo experimental reportado para Uruguay que es de 83 (Formoso, 2010). Finalmente, el peso de 1000 semillas fue similar al reportado por Formoso (2010) (1,80 g). Sin embargo, este valor mayor al esperado para el momento analizado, podría ser producto de la intensidad del proceso de limpieza de semillas utilizado en el presente estudio. Se siguió un procedimiento comercial, seleccionando semillas bien desarrolladas y resultando por tanto en un peso de semillas sobrevaluado.

En relación a los tres indicadores mencionados previamente, el número de abejorros estuvo asociado significativamente solo con el número de inflorescencias/m². Esto refleja que la disponibilidad de recursos florales es lo que determinó la presencia de abejorros en las parcelas.

Por otro lado, para evaluar la habilidad polinizadora de los abejorros en el trébol rojo, los indicadores de rendimiento más relevantes son aquellos que resultan de la propia acción de los polinizadores tales como la proporción de semillas por flor de cada inflorescencia, el número de inflorescencias maduras/m² y parcialmente, con el peso de semillas/m².

La proporción promedio de semillas por inflorescencia fue superior a la reportada por Formoso (2010), quien determinó que el máximo rendimiento de cuajado podría alcanzar a 61,9 % utilizando abejas melíferas como polinizadores. Sin embargo, a diferencia de lo que podría esperarse, este indicador no pudo asociarse al número de

abejorros presentes en las parcelas. Por otro lado, el número de inflorescencias maduras (con semillas)/m² si se asoció positivamente con el número de abejorros, lo que refleja su acción como polinizadores. Como se mencionó previamente, los abejorros se distribuyeron en el semillero de acuerdo a la distribución de los recursos. En conjunto, estas observaciones sugieren que el número de flores polinizadas no dependió de la densidad de los abejorros, sino que la presencia de estos insectos que es la que determinó su polinización está condicionada por la cantidad de inflorescencias atractivas disponibles.

La relación encontrada entre el número de abejorros y el peso de las semillas por metro cuadrado probablemente refleje una mayor cantidad de semillas producidas por unidad de superficie. No se puede descartar que el peso individual de las semillas también sea mayor, pero no es posible establecer una comparación con datos bibliográficos debido a que el método utilizado selecciona las semillas más pesadas. Cualquiera sea el caso, el hecho de por cada dos abejorros detectados pecoreando, el rendimiento de semillas (medido en gramos por metro cuadrado) incrementó en una unidad, es información valorable a considerar cuando se utilizan abejorros como polinizadores en la producción comercial de semillas de trébol rojo.

Todo lo expuesto anteriormente, sugiere que para que se obtenga un buen rendimiento de semillas es más importante la relación entre el número de abejorros y el número de inflorescencias en el cultivo que la densidad absoluta de abejorros. Por lo tanto, el principal factor que habría limitado el rendimiento de semillas en el presente estudio sería el número de inflorescencias por unidad de superficie que, como se mencionó previamente, fue notoriamente menor que lo registrado en condiciones normales para la producción de semillas de trébol rojo (Formoso, 2010). En concordancia con esto, Varela y Rebuffo (1999) encontraron que el rendimiento de semillas estaba asociado a la mayor

densidad de inflorescencias. Portella Montardo et al. (2003) también encontraron que el rendimiento de semillas de trébol rojo estuvo correlacionado ($r = 0,710$) con el número de inflorescencias por planta.

En el presente estudio, el rendimiento de semilla promedio por hectárea fue de 74 kg, valor que está muy por debajo del promedio nacional. Las razones para este bajo rendimiento fueron principalmente debidas a la poca cantidad de inflorescencias/m² (condiciones climáticas) y a una cosecha anticipada. Esta cosecha anticipada afectó el número de inflorescencias maduras (74 % del total) pero principalmente el desarrollo de las semillas de las flores polinizadas. Semillas inmaduras o no bien desarrolladas fueron perdidas durante el proceso de limpieza. No obstante, si el rendimiento por hectárea se calcula utilizando los valores de los indicadores obtenidos en el presente estudio (106 flores por inflorescencia, 64,4 % de cuajado y 1,8 g de peso de 1000 semillas) pero con 700 inflorescencias/m² (correspondiente a un valor normal para una primera floración de trébol rojo), se obtendría un rendimiento de 836 kg/ha. Este valor hipotético es siete veces mayor al promedio nacional de producción de semillas de trébol rojo (119 kg/ha) reportado por García et al. (1991). Este valor también se destaca entre valores de rendimiento de semillas de trébol rojo reportados para otros países. Por ejemplo, en Polonia Wilczek y Æwintal (2008) encontraron valores de 688, 737 y 937 kg/ha en el cultivar Parada para años diferentes. En Serbia, Tomiæ et al. (2014) encontraron valores promedio para cuatro cultivares de trébol rojo de 251 kg/ha para un año lluvioso y 638 kg/ha para un año con menos lluvias.

Consideraciones finales

Los resultados del presente estudio muestran la factibilidad de obtener buenos rendimientos de semillas de trébol rojo en Uruguay utilizando a los abejorros nativos *B. atratus*

Cuadro 1. Valores promedio, desvío estándar (DE) y rango de los indicadores de rendimiento para la producción de semillas de trébol rojo calculados en 25 parcelas experimentales

Indicadores de rendimiento	Promedio	DE	Rango
Cuajado/Proporción de semillas/inflorescencia (%)	64,6	10	54,6 – 74,6
Nº de flores/inflorescencia	106,1	14,6	68,6 – 136,1
Nº de inflorescencias/m ²	296,7	97,1	122,0 – 480,0
Nº de inflorescencias maduras/m ²	219,7	84	91,0 – 398,0
Peso de 1000 semillas (g)	1,8	0,1	1,4 – 2,1
Rendimiento de semillas (g/m ²)	7,4	3,6	2,1 – 14,1

y *B. bellicosus* como polinizadores, pese a que no se encontró una correlación entre el cuajado de flores por inflorescencia y la presencia de abejorros. De todos modos, la proporción de semillas por inflorescencia alcanzó el 64,4 %, valor similar al máximo obtenido en Uruguay (Formoso, 2010). Debido a que este estudio se realizó durante la segunda floración del cultivo, con una densidad de inflorescencias bastante menor que la de una primera floración, el rendimiento por unidad de superficie no fue destacado. Existe una limitante importante para la utilización de abejorros nativos como polinizadores de trébol rojo en Uruguay: el ciclo de vida de los abejorros determina que las colonias alcancen su pico poblacional en marzo por lo que no es posible polinizar el trébol rojo en su primera floración (diciembre-enero) cuando el potencial de producción de semillas es mayor. Esta limitante podría ser superada con colonias criadas artificialmente. En este sentido, Salvarrey et al. (2013) han conseguido avances relevantes en el proceso de cría de colonias de *B. atratus* y *B. bellicosus* lo que permitiría proveer colonias en la primera floración del trébol rojo.

Bibliografía

- Arbulo, N., Santos, E., Salvarrey, S. y Invernizzi, C. (2011). Proboscis length and resource utilization in two Uruguayan bumblebees: *Bombus atratus* Franklin and *Bombus bellicosus* Smith (Hymenoptera: Apidae). *Neotropical Entomology*, 40, 72-77.
- Bentancourt, C. M. y Scatoni, I. B. (2006). *Lepidópteros de importancia económica, reconocimiento, biología y daños de las plagas agrícolas y forestales*. Montevideo: Hemisferio Sur.
- Bohart, G. E. (1957). Pollination of alfalfa and red clover. *Annual Review Entomology*, 2, 355-380.
- Cameron, S. A. y Williams, P. H. (2003). Phylogeny of bumblebees in the New World subgenus *Fervidobombus* (Hymenoptera: Apidae): Congruence of molecular and morphological data. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 28, 552-563.
- Corbella, E., Pierono, S., Visca, J. y Alemán, R. (1995). *Manejo de colonias de abejas melíferas en la polinización de trébol rojo (Trifolium pratense)*. Montevideo: INIA. (Boletín de Divulgación, N° 52).
- Formoso, F. (2010). *Producción de semillas de especies forrajeras*. Montevideo: INIA. (Serie Técnica, No 190).
- Free, J. B. (1993). *Insect pollination of crops*. London: Academic Press.
- García, J. A., Rebuffo, M., Formoso, F. y Astor, D. (1991). *Producción de semillas forrajeras: Tecnologías en uso*. Montevideo: INIA. (Serie Técnica, No 2).
- Goulson, D. (2003). *Bumblebees: their behaviour and ecology*. Oxford: Oxford University Press.
- Heinrich, B. (2004). *Bumblebee economics*. Cambridge: Harvard University Press.
- Holm, N. (1966). The utilization and management of bumble bees for red clover and alfalfa seed production. *Annual Review of Entomology*, 11, 155-186.
- INASE. (2016). Estadísticas. Recuperado de <http://www.inase.org.uy/Sitio/Estadisticas/Default.aspx>
- Izaguirre, P. y Beyhaut, R. (1998). *Las leguminosas en Uruguay y regiones vecinas: Parte 1-Papilionoideae (Faboideae)*. Montevideo: Hemisferio Sur.
- McGregor, S. E. (1976). *Insect pollination of cultivated crop plants*. Washington: USDA. (Agricultural Handbook).
- Michener, C. D. (2007). *The bees of the world*. Baltimore: Johns Hopkins University Press.
- Palmer-Jones, T., Forster, L. W. y Clinch, P. G. (1966). Observations on the pollination of Montgomery red clover (*Trifolium pratense* L.). *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 9, 738-747.
- Peterson, A. G., Furgala, B. y Holdaway, F. G. (1960). Pollination of red clover in Minnesota. *Journal of Economic Entomology*, 53, 546-550.
- Plowright, R. C. y Hartling, L. K. (1981). Red clover pollination by bumble bees: a study of the dynamics of a plant-pollinator relationship. *Journal of Applied Ecology*, 18, 639-647.
- Portella Montardo, D., Dall'Agnol, M., Facchini Crusius, A. y Rodrigues Paim, N. (2003). Análise de trilha para rendimento de sementes em trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32, 1076-1082.
- Rao, S. y Stephen, W. P. (2009). Bumble bee pollinators in red clover seed production. *Crop Science*, 49, 2207-2214.
- Rao, S. y Stephen, W. P. (2010). Abundance and diversity of native bumble bees associated with agricultural crops: the Willamette Valley experience. *Psyche*. doi:10.1155/2010/354072.
- Salvarrey, S., Arbulo, N., Santos, E. y Invernizzi, C. (2013). Cría artificial de abejorros nativos *Bombus atratus* y *Bombus bellicosus* (Hymenoptera, Apidae). *Agrociencia (Uruguay)*, 17, 75-82.
- Taylor, N. L. y Quesenberry, K. H. (1996). *Red clover science*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Tomia, D., Stevovia, V., Đurovia, D. y Stanisavljevia, R. (2014). Effect of cobalt application on seed production in red clover (*Trifolium pratense* L.). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 16, 517-526.
- Varela, G. y Rebuffo, M. (1999). *Utilización de abejorros (Bombus sp.) para aumentar la producción de semilla de trébol rojo (Trifolium pratense) en túneles de aislamiento*. Montevideo: INIA.
- Wilczek, M. y Ęwintal, M. (2008). Effect of the methods of additional feeding with microelements (B, Mi) on the yield structure and seed yield of red clover. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 11(4), 5. Recuperado de <http://www.ejpau.media.pl/volume11/issue4/art-05/>