

BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE TRES ESPECIES SIMPÁTRICAS DE BIGNONIACEAE EN ARGENTINA

JUAN PABLO TORRETTA^{1,3} y MARÍA CAROLINA CERINO^{2,3}

Summary: Reproductive biology of three sympatric Bignoniaceae in Argentina. The reproductive biology of *Handroanthus heptaphyllus*, *Tabebuia nodosa* y *Fridericia dichotoma* (Bignoniaceae) was studied in El Bagual natural reserve, Formosa Province, Argentina, to describe aspects of floral biology, floral rewards, reproductive system, pollinators, and floral visitors. The results show that species are self-incompatible, non-autogamous and pollinator-dependent (large to medium-sized bees). The fruit set in manually cross-pollinated flowers was higher than the in control flowers. Manually self-pollinated flowers did not set fruits in any of these species. Relative reproductive success was low in the three species. Such low reproductive success may be due to pollen or pollination limitation caused by high levels of geitonogamy.

Key words: Bignoniaceae, pollination, reproductive system, Argentina.

Resumen: La biología reproductiva de *Handroanthus heptaphyllus*, *Tabebuia nodosa* y *Fridericia dichotoma* (Bignoniaceae) fue estudiada en la reserva El Bagual, Provincia de Formosa, Argentina, para describir aspectos de la biología floral, recompensas florales, sistemas reproductivos, polinizadores y visitantes florales. Los resultados obtenidos revelan que las tres especies estudiadas son auto-incompatibles, no autógamas y dependientes de polinizadores (abejas de tamaño mediano a grande). La formación de frutos en flores tratadas con polinización cruzada manual fue superior a la de las flores no tratadas (control); mientras que las flores auto-polinizadas no formaron frutos. El éxito reproductivo relativo fue bajo en las tres especies. Tales éxitos reproductivos podrían deberse a un bajo servicio de polinización (limitación de polen/polinización), debido a altos niveles de geitonogamia.

Palabras clave: Bignoniaceae, polinización, sistema reproductivo, Argentina.

INTRODUCCIÓN

Bignoniaceae es una familia de árboles, arbustos y lianas presente en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, con menor representación en regiones templadas (Olmstead *et al.*, 2009). Posee una distribución pantropical, pero se hallan principalmente en los bosques tropicales del Nuevo Mundo, realizando una menor contribución a los bosques tropicales de África, Malasia y SE de Asia (Fabris, 1979; Gentry, 1990; Olmstead *et al.*, 2009).

En Argentina, la familia se encuentra representada por aproximadamente 60 especies con una mayor riqueza en las regiones del NO y NE argentino (Arbo, 1999).

Numerosas especies de esta familia poseen gran importancia desde un punto de vista ecológico, económico y social. Algunas especies constituyen árboles de gran porte muy requeridos por la industria maderera; otras se cultivan con fines ornamentales; una gran diversidad ha sido utilizada por pueblos aborígenes como medicina, combustible, veneno y en rituales religiosos; mientras que unas pocas son fuente de alimento (Gentry 1992a; Demaio *et al.*, 2002).

Entre las especies neotropicales y de regiones templadas, la biología reproductiva exhibe una apreciable diversidad, ya sea en el tipo de sistema reproductivo como en patrones fenológicos (Gentry, 1974a,b) y tipos morfológicos florales (Gentry, 1974b). La mayoría de las especies presenta

¹ Cátedra de Botánica Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Av. San Martín 4453, C1417DSE, Buenos Aires, Argentina. torretta@agro.uba.ar

² Cátedra de Botánica Sistemática Agronómica, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral.

³ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.

autoincompatibilidad y xenogamia obligada (Stephenson & Thomas 1977; Bertin, 1982; Weber & Vogel, 1986; Gentry, 1990; James & Knox, 1993; Gibbs & Bianchi, 1993, 1999; Bittencourt Jr. *et al.*, 2003; Bittencourt Jr. & Semir, 2004; Rodrigues Correia *et al.*, 2005; Motta Maués *et al.*, 2008; Gandolphi & Bittencourt Jr., 2010); aunque en menor frecuencia fue mencionada la presencia de cierto grado de autocompatibilidad (Gobatto-Rodríguez & Stort, 1992; Dutra & Machado, 2001). En numerosas especies con polinización cruzada fue comprobada la existencia de algún mecanismo de autoincompatibilidad de acción retrasada (LSI, late-acting self-incompatibility) (Bittencourt Jr. *et al.*, 2003). Sin embargo, el (o los) mecanismo/s involucrado/s en este tipo de LSI aún no están esclarecidos (Gibbs & Bianchi, 1999).

Gentry (1990) afirma que una combinación de adaptaciones estructurales y comportamentales que permitan un uso diferencial de recursos, explica la existencia de varias especies simpátricas en aislamiento reproductivo. La ocurrencia de simpatria entre muchas de las especies neotropicales de Bignoniaceae, los pocos casos citados de hibridación natural interespecífica, y la posibilidad de producir híbridos (inclusive intergenéricos) (Gentry, 1990), refuerza la hipótesis referida a que la diversidad reproductiva existente entre las Bignoniaceae permite un uso diferencial de polinizadores y la consecuente coexistencia de las mismas.

El norte de Argentina presenta formaciones vegetales en las que conviven varias especies de Bignoniaceae, lo cual constituye el escenario propicio para poner a prueba las generalizaciones sobre aislamiento reproductivo generadas en otras latitudes, y avanzar en el conocimiento sobre el comportamiento reproductivo de importantes especies arbóreas de nuestro país. Una muestra de dicha circunstancia se halla en la Reserva El Bagual, ubicada al sudeste de la provincia de Formosa, donde conviven *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos, *Tabebuia nodosa* (Griseb.) Griseb, y *Fridericia dichotoma* (Jacq.) L.G. Lohmann. Los objetivos del presente trabajo son: 1) estudiar el desarrollo floral y las recompensas ofrecidas a los visitantes florales, 2) identificar sus visitantes florales y polinizadores, y 3) determinar el sistema reproductivo y medir el éxito reproductivo materno de las tres especies.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio

El trabajo de campo fue realizado entre Agosto de 2001 y Octubre de 2002 en la Reserva El Bagual, ubicada en el extremo sudeste del Departamento San Francisco de Laishi (S 26° 10' 53'', W 58° 56' 39''), Provincia de Formosa, Argentina. La misma está incluida dentro de la región fitogeográfica 'Chaco Oriental' (Cabrera 1971), y la vegetación natural incluye, básicamente, sabanas con árboles o arbustos que cubren grandes extensiones y dos tipos de bosques: ribereños asociados a cursos de ríos y riachos, y bosques en isletas dispuestos en parches sobre una matriz de pastizales (Di Giacomo, 2001; Maturo *et al.*, 2005). Las visitas al sitio de estudio fueron realizadas en tres oportunidades: agosto y septiembre de 2001, y octubre de 2002.

Especies estudiadas

Handroanthus heptaphyllus (Vell.) Mattos (Tecomeae), (= *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo), conocida vulgarmente como "lapacho morado", "lapacho negro" o "ipé", es un árbol de hasta 25-(30) m de altura, de hojas palmaticompuestas, 5-(7)-folioladas, de borde aserrado. Especie caducifolia, cuya floración ocurre cuando el árbol se encuentra aun sin hojas. El cáliz esta formado por 5 sépalos fusionados. La corola 5-lobulada, de unos 5-6,5 cm de longitud, es rosado-magenta. La inflorescencia es una panícula terminal con gran número de flores. Posee cuatro estambres didínamos con anteras divaricadas y filamentos fusionados con la base de la corola. Presenta un disco nectarífero que rodea la base del ovario. El fruto es una cápsula cilíndrica, alargada, de hasta unos 40 cm de largo y 1-1,5 cm de diámetro, que libera numerosas semillas bialadas (Fabris, 1979; Gentry, 1992b).

Tabebuia nodosa (Griseb.) Griseb. (Tecomeae), conocida como "palo cruz", "uiñaj" o "Martin Gil", es un árbol de 2-10-(15) metros de altura. Las hojas son simples, caducas y cortamente pecioladas. Posee un cáliz acampanado y una corola infundibuliforme amarilla de 2,5-4,5 cm de longitud con guías de néctar rojizas. El androceo esta formado por cuatro estambres didínamos con anteras divaricadas, y filamentos fusionados a la corola. El disco nectarífero es similar al de la especie anterior. La inflorescencia esta formada por

una única flor o por grupos de 2-3 flores. La cápsula es lineal, de hasta unos 15 cm de longitud y 1 cm de diámetro, y libera semillas bialadas (Fabris, 1993; Gentry, 1992b; López *et al.*, 1987).

Fridericia dichotoma (Jacq.) L.G. Lohmann (Bignoniaceae), (= *Arrabidaea corallina* (Jacq.) Sandwith), conocida como “dama del monte”, a diferencia de las especies anteriores es una liana. Las hojas son 2-3-folioladas con folíolos ovados a elípticos y zarcillos simples. El cáliz es acampanado con dientes muy cortos. La corola es rosado-lila, con el interior del tubo blanco, de 4-6 cm de longitud. Los estambres son didínamos con anteras divaricadas, y los filamentos están soldados a la base de la corola. El ovario es cilíndrico y escamoso, el estilo es más largo que los estambres y remata en un estigma bilamelado. Las inflorescencias son multifloras y generalmente axilares. El fruto es una cápsula de unos 20-30 cm de longitud y 1,5-2 cm de ancho, que libera semillas aladas (Fabris, 1993).

Material de referencia de las tres especies se encuentra depositado en el Herbario “Gaspar Suarez” de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (*Handroanthus heptaphyllus* BAA24730-3; *Tabebuia nodosa* BAA 24727-9 y *Fridericia dichotoma* BAA 24724-6).

Fenología de floración

Las tres especies focales florecen en el área de estudio hacia finales del invierno y principios de la primavera. *Handroanthus heptaphyllus* florece entre fines de agosto y principios de octubre con el pico de floración durante el mes de septiembre. El período de floración de cada individuo es aproximadamente un mes. Algunos individuos pueden presentar un segundo y más pequeño pico de floración hacia comienzos del verano (Torretta, 2004). *Tabebuia nodosa*, tiene una floración más prolongada y florece desde agosto-septiembre hasta el mes de febrero, con un pico en la época primaveral (octubre-noviembre), y los períodos de floración de cada individuo son cortos y con bajo número de flores, con varios períodos de floración cada individuos (Torretta, 2004). Existe una creencia popular que esta especie florece prediciendo el comienzo de las lluvias (Gentry, 1992b). *Fridericia dichotoma*, exhibe un período de floración entre finales de septiembre y comienzo de noviembre con un pico de máxima floración en

octubre. En el área de estudio, *H. heptaphyllus* y *F. dichotoma* solapan parcialmente en el período de floración, mientras que *T. nodosa* coflorece con las otras especies, prácticamente durante la floración completa (Torretta, 2004).

Biología floral

Desarrollo floral. La morfología y longevidad floral fueron determinadas en base a 50 botones florales que se hallaban próximos a la antesis. Estos fueron marcados en 3, 8 y 5 individuos de *H. heptaphyllus*, *T. nodosa* y *F. dichotoma*, respectivamente, y revisados dos veces por día hasta la senescencia floral.

Néctar. Las mediciones de volumen y concentración de néctar fueron realizadas sobre flores sin visitas que se encontraban encerradas con bolsas de tela. El néctar fue obtenido mediante jeringas de 10 microlitros, y su concentración determinada con refractómetros manuales [n=40 flores (5 individuos), 28 (4) y 49 (5) para *H. heptaphyllus*, *T. nodosa* y *F. dichotoma*, respectivamente]. Ambas variables fueron comparadas entre especies y entre individuos de cada especie. Como los datos no cumplieron con el supuesto de normalidad se analizaron mediante una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

Polen. La producción de granos de polen por antera y por flor fue determinada en base a un total de 15, 6 y 8 botones florales próximos a la antesis colectados en 3 individuos de *H. heptaphyllus* (5 flores por individuo), *T. nodosa* (2 flores por individuo) y *F. dichotoma* (3 flores en dos individuos y 2 flor en el tercer individuo). El polen obtenido de las anteras fue suspendido en un volumen conocido de agua, al cual fueron agregadas esporas foráneas (pastillas de *Lycopodium*). Posteriormente, esta suspensión fue centrifugada a 15 min a 3500 rpm, y el sedimento obtenido fue montado en gelatina coloreada con safranina. Bajo microscopio óptico se realizó el recuento de las esporas y los granos de polen presentes en una alícuota de dicho sedimento (Stockmarr, 1970). El número de granos de polen por flor fue calculado multiplicando el valor obtenido en el paso anterior por el número de anteras de la flor. El número de granos de polen por flor se comparó entre grupos mediante una prueba no paramétrica por rangos de Kruskal-Wallis. Para cada especie fueron comparados los valores medianos entre grupos mediante pruebas de

LSD (least significant difference) de comparaciones múltiples.

Cargas polínicas en los estigmas de las especies focales

Para determinar si otras especies de la comunidad cuyas floraciones se superponen total o parcialmente con las de *H. heptaphyllus*, *T. nodosa* y *F. dichotoma*, o comparten polinizadores con ellas, se analizó la carga polínica hallada sobre los estigmas de cada especie focal. Para ello se colectaron gineceos de 15 flores por individuo expuestas a polinización libre seleccionados al azar en tres individuos de cada especie. Posteriormente la superficie estigmática fue macerada durante 24h en una solución de NaOH 20% en cámara húmeda, y montada en un portaobjetos con gelatina-glicerina coloreada con safranina. Finalmente, el análisis de la procedencia de los granos de polen fue realizado en base a la cantidad de granos de polen presentes y a su pertenencia taxonómica, comparando los mismos con una colección de referencia del Laboratorio de Paleobotánica y Palinología, de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA). El número de granos de polen sobre los estigmas fue comparado con el número de óvulos para cada una de las especies mediante la prueba no paramétrica de Mann-Whitney, para muestras independientes. Por otro lado, el número de granos de polen coespecíficos y heteroespecíficos en los estigmas de cada especie fueron comparados con la prueba de Wilcoxon para muestras dependientes o pareadas.

Polinizadores y visitantes florales

Fueron considerados “polinizadores” aquellos visitantes florales que realizaron visitas legítimas, es decir, que lograban el contacto con los órganos reproductivos de la flor. La identidad de los visitantes florales pudo obtenerse por observaciones directas y captura de los animales que visitaban las flores de las tres especies. Los insectos fueron capturados entre las 7:30 y 19:00 h, mediante redes entomológicas. Las especies de aves fueron identificadas mediante el uso de binoculares, y los picaflores en particular fueron capturados con redes de niebla (Avinet Inc. UELB/27, Japón). Debido a que estas aves se movían entre las flores más altas de árboles de *H. heptaphyllus*, a fin de atraer individuos, fueron cortadas ramas con varias inflorescencias de flores abiertas y dispuestas en el suelo a modo de arbusto entre las 8:30 y 14:30h,

colocándose en sus inmediaciones las redes de niebla.

La mayoría de los insectos capturados fueron determinados al menor nivel taxonómico posible, en algunos casos con ayuda de especialista (Ver Agradecimientos), y aquellos a los que no se los pudo identificar fueron asignados a morfo-especies. Los insectos capturados se encuentran depositados en la Colección Entomológica de la Cátedra de Botánica Agrícola de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (FAUBA).

Carga polínica de los visitantes florales

Para el estudio de la carga polínica adherida al cuerpo de los visitantes, el cuerpo de los insectos (superficie dorsal), y la frente de los picaflores se frotaron con trozos pequeños de gelatina-glicerina coloreada con safranina. Con estas muestras se elaboraron preparados que fueron examinados con microscopio (Olympus BH2) para determinar la pureza de la carga polínica. El polen hallado sobre los visitantes florales fue comparado con la colección polínica de referencia.

Sistema reproductivo

Para estudiar el sistema reproductivo de cada especie, se marcaron 5 inflorescencias de número conocido de flores en 6 individuos de *H. heptaphyllus*, 7 individuos de *T. nodosa* y 9 individuos de *F. dichotoma*, cada una de las cuales fue asignada al azar a cada uno de los siguientes tratamientos: (1) Autopolinización espontánea: la inflorescencia fue encerrada con una bolsa de tela impidiendo así el flujo de polen exógeno, sin realizar tratamientos de polinización; (2) Autopolinización manual (autogamia y geitonogamia): la inflorescencia fue encerrada con una bolsa de tela y a medida que las flores alcanzaban la fase femenina, fueron polinizadas con su propio polen o con polen de otra flor de la misma planta, dependiendo de la disponibilidad de polen; (3) Polinización cruzada manual (xenogamia): la inflorescencia fue encerrada con una bolsa de tela y a medida que las flores alcanzaban la fase femenina, fueron polinizadas con polen recién cosechado de flores recientemente abiertas de otros individuos coespecíficos distantes; (4) Anemofilia: la inflorescencia fue encerrada con una bolsa de malla de 1mm, excluyendo a los visitantes florales y permitiendo el pasaje de polen aerotransportado; (5) Polinización libre (control): la inflorescencia marcada no fue encerrada para permitir que los visitantes y el

polen aerotransportado pudieran acceder libremente a las flores. Al inicio de la experiencia fueron contabilizadas las flores en cada inflorescencia. Al finalizar la experiencia se cosecharon los frutos formados en cada tratamiento. En el caso de *T. nodosa*, debido a la baja disponibilidad de flores y al conocimiento de que se trata de una especie auto-incompatible (Gibbs & Bianchi, 1999), no se realizaron las pruebas de autopolinización espontánea y manual. Para evaluar el efecto de los tratamientos de polinización sobre la proporción de frutos formados se realizó un análisis jerárquico log-lineal. Todos los análisis fueron evaluados por el cociente de verosimilitud del estadístico Chi cuadrado: términos específicos de interacción y los efectos principales fueron evaluados a partir de pruebas parciales de asociación (Agresti, 2002).

Éxito reproductivo materno

El éxito reproductivo materno fue determinado a partir de la proporción de flores que produjeron frutos maduros (*fruit set*), y de óvulos que se transformaron en semillas (*seed set*). La proporción fruto/flor resultó directamente del tratamiento 'Polinización libre' utilizado para definir sistema reproductivo. La proporción semilla/óvulo fue establecida relacionando el número medio de óvulos por flor (fueron contados en 15 flores de tres individuos para *H. heptaphyllus*, 6 flores de tres individuos para *T. nodosa* y 8 flores de tres individuos para *F. dichotoma*) y el número medio de semillas viables por fruto (fueron utilizados 20 frutos cosechados al azar de cuatro individuos de cada especie). Con estos valores fue calculado el índice de éxito reproductivo materno relativo (RRS=Relative Reproductive Success) (Dafni 1992), según la fórmula $RRS = (\text{número de frutos/número de flores}) \times (\text{número de semillas/número de óvulos})$. El valor obtenido se encuentra entre 0 y 1. Los valores cercanos a 1 indican un gran éxito reproductivo (1 implica la transformación en semillas viables de todos los óvulos de la planta), mientras que valores cercanos a 0 indican lo contrario (0 implica que la planta no fue capaz de formar alguna semilla viable).

RESULTADOS

Biología floral

La antesis de las tres especies sigue un curso común. Sin embargo, se observaron leves diferencias

interespecíficas que se detallan luego de la descripción general. El proceso de desarrollo floral comprendió las siguientes etapas:

Apertura floral: las flores prontas a abrirse se encuentran en posición horizontal o inclinada hasta 45° bajo la horizontal, presentando en esta etapa secreción de néctar. La antesis comienza con la expansión de los lóbulos de la corola. Antes de que la misma se complete, el estilo comienza a alargarse hasta superar a los estambres más largos.

Fase masculina: una vez que los lóbulos de la corola se encuentran completamente expandidos se produce la dehiscencia de las anteras (que es longitudinal e introrsa), primero de los estambres más largos y luego de los más cortos. Continúa observándose néctar en el disco nectarífero, y el polen presentado sobre las anteras puede ser removido por los visitantes florales.

Fase femenina: el estilo alcanza su máxima longitud, quedando a 1-2 mm por encima de las anteras más externas, es decir al nivel de la garganta floral. El estigma bilamelado se abre exponiendo la superficie estigmática (que es blanca al principio y luego se va oscureciendo desde el ápice hacia la base de las laminillas, a medida que pierde receptividad) hacia el exterior de la flor. En flores no visitadas o poco visitadas durante la fase masculina, las anteras pueden presentar polen aún durante esta fase, aunque no están tan expuestas a los polinizadores como en la fase masculina. El disco continúa presentando néctar.

Senescencia: cuando se completa la antesis, la corola cae junto a los estambres, quedando el gineceo y el cáliz sobre la planta. En las flores polinizadas el estilo perdura mientras los frutos en desarrollo son pequeños, y luego abscinde, mientras que el cáliz persiste en la mayoría de los frutos maduros. En las flores no polinizadas cáliz y gineceo caen a los pocos días.

A continuación se detalla la biología floral y las variantes observadas en cada una de las especies vegetales estudiadas.

Handroanthus heptaphyllus: las flores son ligeramente fragantes. La corola es rosado-magenta, con una mancha amarilla en la garganta y guías de néctar rojas que van desapareciendo a medida que la flor envejece. La pared del tubo floral es relativamente gruesa, lo cual otorga firmeza a la flor. La longevidad de las flores es de 1 día. La mayoría de ellas comienza a abrirse al amanecer (7:00-7:30h). La presentación del polen comienza de manera

inmediata: a las 8:00 lo hacen los estambres más largos y alrededor de las 10:00 todas las anteras están dehiscentes. El polen es progresivamente removido por los visitantes, pero en flores no visitadas puede permanecer sobre las anteras hasta el fin de la antesis. Las flores entran en fase femenina hacia el mediodía (12:30-13:00) y permanecen abiertas hasta las últimas horas de la tarde (19:30-20:00) tras lo cual la corola y los estambres entran en senescencia. Muy pocas se abren luego del mediodía y en caso de hacerlo, generalmente entran en fase masculina a la mañana siguiente. Las flores senescentes pierden primero coloración, luego turgencia y al segundo o tercer día de comenzada la antesis caen corola y estambres. En esta etapa las flores no reciben ninguna clase de visita.

Tabebuia nodosa: las flores prácticamente carecen de perfume perceptible por seres humanos. La corola es amarilla con delicadas guías de néctar rojizas que desaparecen hacia la senescencia. El tubo floral presenta una compresión dorso-ventral marcada. A diferencia de *H. heptaphyllus*, las flores son de textura delicada y caen fácilmente cuando son manipuladas. Las flores duran entre 1 a 2 días. La mayoría comienza a abrir al amanecer (7:00-7:30), aunque algunas pueden hacerlo hasta pasado el mediodía (13:30-14:00). La dehiscencia de los estambres comienza entre las 7:30 y 8:00, alcanzando la media mañana (aproximadamente las 10:00) con las cuatro anteras ya abiertas. Como en la especie anterior, la carga polínica sobre los estambres solo disminuye si se producen visitas. Los lóbulos del estigma se despliegan alrededor de las 13:00-13:30 y la fase femenina dura hasta el atardecer del día siguiente. En esta especie se encontraron flores sin néctar.

Fridericia dichotoma: las flores son ligeramente

fragantes. La corola es rosado-lila con garganta blanca, sin guías de néctar y de textura firme similar a la de las flores del *H. heptaphyllus*. Las flores de esta especie duran 1 día. La antesis comienza temprano (6:30-7:00). Las anteras de los estambres largos comienzan a presentar polen alrededor de las 8:00 y a las 10:00-10:30 todas las anteras se encuentran dehiscentes. Hacia las 11:00-11:30 las flores entran en fase femenina, permaneciendo en la misma hasta el atardecer, momento en el cual las flores pierden la coloración de la garganta y al segundo o tercer día caen corola y estambres.

Recompensas florales

Néctar: Las tres especies presentaron néctar como recompensa principal. Sin embargo, se observaron diferencias en los valores medianos de volumen y concentración ofrecidos por cada especie (Tabla 1, $H=42,018$; $P=0,00001$; $H=57,865$; $P=0,00001$, respectivamente). Ambas variables presentaron mayores valores en *H. heptaphyllus* y *F. dichotoma* que en *T. nodosa*.

Entre los individuos de *H. heptaphyllus* no se observaron diferencias significativas medianas en el volumen y la concentración del néctar ($H=0,201$; $P=0,995$ y $H=3,609$; $P=0,462$, para volumen y concentración, respectivamente). Mientras que en *T. nodosa* y en *F. dichotoma* las diferencias entre individuos fueron significativas para ambas variables ($H=9,138$; $P=0,0275$ y $H=9,979$; $P=0,0188$, volumen y concentración en *T. nodosa*; $H=18,607$; $P=0,0009$ y $H=19,491$; $P=0,0006$, volumen y concentración en *F. dichotoma*, respectivamente).

Polen. El número de granos de polen producido por las tres especies fue elevado (Tabla 1), y las cantidades medianas fueron significativamente diferentes entre especies ($H=23.317$; $P=0,00001$).

Tabla 1. Volumen y concentración de néctar floral, número de granos de polen y óvulos por flor (expresados como valores medios \pm desvío estándar), de tres especies de Bignoniaceae de la reserva El Bagual, Formosa, Argentina. Los valores entre paréntesis indican el número de flores tratadas/número de individuos. s.d. sin datos. Valores acompañados por distintas letras indican diferencias significativas ($P<0,05$, LSD de comparaciones múltiples).

	<i>Handroanthus heptaphyllus</i>	<i>Tabebuia nodosa</i>	<i>Fridericia dichotoma</i>
Volumen de néctar (μ l)	3,4 \pm 1,4 b (40/5)	1,9 \pm 0,7 a (28/4)	4,3 \pm 1,4 b (49/5)
Concentración de néctar (%)	33,6 \pm 6,5 b (40/5)	21,8 \pm 6,2 a (28/4)	28,9 \pm 4,4 b (49/5)
N° de granos de polen por flor	123508,8 \pm 13075,7 c (15/3)	47640,8 \pm 2162,3 b (6/3)	32400,7 \pm 8892,2 a (8/3)
N° de óvulos por flor	219 \pm 37,0 c (15/3)	115,9 \pm 8,1 b (6/3)	28,1 \pm 2,4 a (8/3)

Cargas polínicas en los estigmas

En flores expuestas a los polinizadores, fueron hallados un promedio (\pm desvío estándar) de 564,2 \pm 344,8; 131,8 \pm 93,1 y 176,0 \pm 225,6 granos de polen en los estigmas de *H. heptaphyllus*, *T. nodosa* y *F. dichotoma*, respectivamente. El número medio de granos de polen fue superior al número medio de óvulos en las tres especies (por factores de 2,6 x, 1,2 x y 6,3 x, para *H. heptaphyllus*, *T. nodosa* y *F. dichotoma*, respectivamente). Sin embargo, las diferencias entre el número de granos de polen en estigmas y el número de óvulos fueron significativas sólo para *H. heptaphyllus* y *F. dichotoma* ($U=21,0$; $P=0,00025$ y $U=39,0$; $P=0,021$, respectivamente).

Las cargas polínicas encontradas en los estigmas estuvieron dominadas por granos coespecíficos, cuyo número fue significativamente superior al de granos heteroespecíficos en cada una de las tres especies (Wilcoxon: $T<0,00$; $P=0,000983$; $T<0,00$; $P=0,001475$ y $T<0,00$; $P=0,000983$, para *H. heptaphyllus*, *T. nodosa* y *F. dichotoma*, respectivamente). Una elevada proporción de los individuos examinados presentó cargas coespecíficas puras: en *H. heptaphyllus* todos los estigmas revisados presentaron más de un 99% de polen coespecífico; en *T. nodosa*, el 85% de los estigmas presentó un 100% de polen propio (y más del 75% de polen propio en el 15% de estigmas restantes); finalmente, en *F. dichotoma* en el 80% de los estigmas fue hallado el 80% de polen puro, mientras el mismo representó más de 70% en el 20% de estigmas restante.

Polinizadores y visitantes florales

Los visitantes florales más abundantes sobre las tres especies de bignoniáceas pertenecieron al Orden Hymenoptera (70% de los visitantes florales). Otros visitantes florales fueron individuos de Diptera, Lepidoptera y Coleoptera (Tabla 2) y en las tres especies se observaron dos especies de picaflores e individuos de otras familias de aves.

Los himenópteros más abundantes fueron abejas que pertenecían a las familias Apidae, Megachilidae y Halictidae. También, se capturaron avispas (Vespidae y Scoliidae), y hormigas (Formicidae). El número de polinizadores compartidos fue bajo. Solo la ubieua *Apis mellifera* fue observada en las tres especies estudiadas. El número de insectos visitantes florales fue variable entre las especies vegetales, observándose la mayor riqueza en *H.*

heptaphyllus (16 especies de visitantes florales), seguida por *T. nodosa* (12 especies) y *F. dichotoma* (10 especies) (Tabla 2).

Polinizadores y otros visitantes florales de *Handroanthus heptaphyllus*: las especies de himenópteros identificadas como polinizadoras de *H. heptaphyllus* fueron *Centris nigriventris*, *C. tarsata*, *Mesoplia rufipes*, *Tetragonisca angustula*, *A. mellifera*, *Megachile* sp. 1 y sp. 2, y *Xylocopa macrops*.

Entre los mismos se observaron variaciones respecto al número de granos de polen transportados por cada uno, la parte del cuerpo en que los acarreaban, y el comportamiento de los individuos para llegar hasta la recompensa. El número de granos de polen transportado por estas especies fue elevado, hallándose en todas (excepto *Xylocopa nigrocincta*) entre 800 y más de 1000 unidades por individuo (Tabla 3). *Centris nigriventris*, *C. tarsata*, *M. rufipes* y *X. macrops* transportaban el polen sobre el tórax; *Megachile* spp., *A. mellifera* y *T. angustula* lo hacían principalmente sobre escopas y/o corbículas (y en menor cantidad sobre el tórax). Las cargas polínicas de los individuos capturados sobre las flores de esta especie fueron mayormente puras.

Las abejas *Centris* spp., *Megachile* spp. y *M. rufipes* al arribar a las flores aterrizaron en la plataforma formada por los lóbulos inferiores de la corola, y se introducían caminando en el tubo floral, hasta llegar al final del mismo donde libaban el néctar. Debido a que el diámetro interno del tubo floral es similar al tamaño de estos insectos, al ingresar a la flor tocaban primero el estigma y luego las anteras con el dorso de su tórax.

Entre las aves fueron observadas dos especies de picaflores *Hylocharis chrysurus* y *Chlorostilbon aureoventris* realizando pocas visitas legítimas, durante las cuales se acercaban de frente a la flor e introducían el pico por la garganta floral, tocando con la frente y el pico las anteras y estigmas. Dos de los tres individuos capturados, llevaban pocos granos de polen de *H. heptaphyllus* en las plumas de la frente. Estas especies de picaflores defendían su parche floral de otros picaflores, de otras aves e incluso de grandes abejorros como *Xylocopa nigrocincta* y *Bombus morio*.

Diversas especies de visitantes florales no transportaban polen o sus cargas polínicas eran reducidas, entre ellos se encuentran *Ceratina* sp., *Augochlora* sp., y *Polybia* sp., *Copestylum*

Tabla 2. Especies de insectos capturados en flores de tres especies de Bignoniaceae de la reserva El Bagual, Formosa, Argentina.

Especies	Individuos capturados en		
	<i>Handroanthus heptaphyllus</i>	<i>Tabebuia nodosa</i>	<i>Fridericia dichotoma</i>
Hymenoptera			
Apidae			
Xylocopinae			
	<i>Xylocopa macrops</i>	X	
	<i>Xylocopa nigrocincta</i>	X	X
Ceratinini			
	<i>Ceratina</i> sp.	X	X
Apinae			
Centridini			
	<i>Centris nigriventris</i>	X	
	<i>Centris tarsata</i>	X	
	<i>Centris tricolor</i>		X
Ericrocidini			
	<i>Mesoplia rufipes</i>	X	
Bombini			
	<i>Bombus morio</i>		X
Meliponini			
	<i>Tetragonisca angustula</i>	X	
Apini			
	<i>Apis mellifera</i>	X	X
Halictidae			
Halictinae			
Augochlorini			
	<i>Augochlora</i> sp.	X	
Megachilidae			
Megachilinae			
Megachilini			
	<i>Megachile</i> sp. 1	X	
	<i>Megachile</i> sp. 2	X	
	<i>Megachile</i> sp. 3		X
	<i>Megachile</i> sp. 4		X
Vespidae			
	<i>Polybia</i> sp.	X	
	<i>Brachygastra lecheguana</i>		X
Formicidae			
	<i>Camponotus</i> sp. 1		X
	<i>Camponotus</i> sp. 2		X
	<i>Camponotus</i> sp. 3		X
	<i>Zacryptocerus clypeatus</i>		X
	Cephalotini sp.		X
Scoliidae			
	<i>Campsomeris</i> sp.		X

Especies	Individuos capturados en		
	<i>Handroanthus heptaphyllus</i>	<i>Tabebuia nodosa</i>	<i>Fridericia dichotoma</i>
Diptera			
Syrphidae			
	<i>Copestylum sexmaculatum</i>	X	
	<i>Palpada pusilla</i>		X
Sarcophagidae			
	Sarcophagidae sp. 1	X	
	Sarcophagidae sp. 2		X
	Sarcophagidae sp. 3		X
	Sarcophagidae sp. 4		X
Tephritidae			
	Tephritidae sp. 1		X
	Tephritidae sp. 2	X	
Lepidoptera			
Pieridae			
	<i>Phoebis sennae</i>	X	
Coleoptera			
Chrysomelidae			
	<i>Diabrotica</i> sp.		X

sexmaculatum, Sarcophagidae sp 1, y Tephritidae sp 1 y *Phoebis sennae*. Muchas flores de *H. heptaphyllus* eran consumidas durante la anthesis por especies de aves como *Ortalis canicollis* (Cracidae), *Amazona aestiva* y *Pyrhura frontales* (Psittacidae), e incluso, por monos *Alouatta caraya* (Cebidae).

También fueron comunes aves insectívoras que recorrían las flores en busca de alimento, como el fueguero (*Piranga flava*), el celestino (*Thraupis sayaca*), el juan chiviro (*Cycharis gujanensis*) y el benteveo (*Pitangus sulphuratus*). Durante las visitas, estos pájaros recorrían inflorescencias buscando insectos dentro de las flores o en sus proximidades.

Polinizadores y otros visitantes florales de *Tabebuia nodosa*: los individuos sobre los que fue observada una gran carga polínica (entre 150 y 600 granos de polen) pertenecieron a *Ceratina* sp., y *Palpada pusilla* (Tabla 3). Entre los visitantes florales capturados cuyas cargas polínicas eran pequeñas se encuentran individuos pertenecientes a Coleoptera, Formicidae, y Díptera (Tabla 3). Al igual que en el caso de *H. heptaphyllus*, los grandes abejorros exceden el diámetro floral de esta especie, por lo cual el consumo de néctar fue a través de orificios en la corola. Las especies de picaflores *H. chrysur* y *C. aureoventris* realizaron visitas esporádicas,

durante las cuales libaban en todas o casi todas las flores disponibles de manera rápida. Sin embargo, no pudo observarse si los individuos de estas especies transportaban granos de polen.

Polinizadores y otros visitantes florales de *Fridericia dichotoma*: todos los individuos de *C. tricolor*, *Campsomeris* sp., *Megachile* spp. y *A. mellifera* fueron capturados llevando a cabo visitas legítimas, y los mismos transportaban elevadas cargas polínicas (Tabla 3). Los himenópteros nativos realizaban visitas muy rápidas, durante las cuales llegaban volando a gran velocidad, se posaban en los lóbulos inferiores de la corola, se introducían en el tubo, y allí permanecían pocos segundos para luego retirarse. La exótica *A. mellifera*, por el contrario, se acercaba lentamente, sobrevolaba las flores y se introducía en varias flores de manera secuencial, pudiendo prolongarse su estadía dentro del tubo por 20-30 segundos. Si bien las cargas polínicas de las abejas silvestres y domésticas no eran puras, el mayor porcentaje de granos de polen correspondía a *F. dichotoma* (Tabla 3).

Esta especie también fue visitada por los picaflores *H. chrysur* y *C. aureoventris*, quienes concurrían solamente a individuos del dosel del bosque y no a las plantas que se encontraban en la periferia del

Tabla 3. Cargas polínicas de algunos individuos de las especies de insectos capturadas en las flores de tres especies de Bignoniaceae de la reserva El Bagual, Formosa, Argentina.

Especies	Capturado sobre	N° granos de polen (%)	
		propios	exóticos
Hymenoptera			
Apidae			
Xylocopinae			
<i>Xylocopa macrops</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	878 (100)	0
<i>Xylocopa nigrocincta</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	45 (100)	0
<i>Xylocopa nigrocincta</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	58 (14.5)	343 (85.5)
<i>Xylocopa nigrocincta</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	28 (100)	0
<i>Xylocopa nigrocincta</i>	<i>F. dichotoma</i>	0	114 (100)
<i>Xylocopa nigrocincta</i>	<i>F. dichotoma</i>	8 (6.4)	118 (93.6)
<i>Ceratina</i> sp.	<i>H. heptaphyllus</i>	12 (100)	0
<i>Ceratina</i> sp.	<i>H. heptaphyllus</i>	5 (100)	0
<i>Ceratina</i> sp.	<i>H. heptaphyllus</i>	10 (100)	0
Apinae			
<i>Mesoplia rufipes</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	1196 (100)	0
<i>Centris nigriventris</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	20 (100)	0
<i>Centris nigriventris</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	1322 (100)	0
<i>Centris nigriventris</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	1538 (100)	0
<i>Centris nigriventris</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	1785 (100)	0
<i>Centris nigriventris</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	1724 (100)	0
<i>Centris tarsata</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	2519 (100)	0
<i>Centris tricolor</i>	<i>F. dichotoma</i>	1978 (100)	0
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	833 (100)	0
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	1157 (100)	0
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	199 (100)	0
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	1345 (100)	0
<i>Tetragonisca angustula</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	595 (100)	0
<i>Apis mellifera</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	20 (2,1)	950 (97,9)
<i>Apis mellifera</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	839 (100)	0
<i>Apis mellifera</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	595 (100)	0
<i>Apis mellifera</i>	<i>T. nodosa</i>	611 (98)	12 (2)
<i>Apis mellifera</i>	<i>F. dichotoma</i>	63 (95,4)	3 (4,6)
Halictidae			
<i>Augochlora</i> sp.	<i>H. heptaphyllus</i>	0	0
Megachilidae			
<i>Megachile</i> sp. 1	<i>H. heptaphyllus</i>	54 (100)	0
<i>Megachile</i> sp. 2	<i>H. heptaphyllus</i>	1440 (100)	0
<i>Megachile</i> sp. 3	<i>F. dichotoma</i>	980 (100)	0
<i>Megachile</i> sp. 4	<i>F. dichotoma</i>	902 (97,7)	21 (2,3)

Especies	Capturado sobre	N° granos de polen (%)	
		propios	exóticos
Formicidae			
<i>Camponotus</i> sp. 1	<i>F. dichotoma</i>	0	0
<i>Camponotus</i> sp. 1	<i>F. dichotoma</i>	2 (100)	0
<i>Camponotus</i> sp. 2	<i>T. nodosa</i>	0	2 (100)
<i>Camponotus</i> sp. 2	<i>T. nodosa</i>	0	0
<i>Camponotus</i> sp. 3	<i>T. nodosa</i>	0	0
<i>Camponotus</i> sp. 3	<i>T. nodosa</i>	0	0
<i>Zacryptocerus clypeatus</i>	<i>T. nodosa</i>	151 (98,6)	2 (1,4)
<i>Zacryptocerus clypeatus</i>	<i>T. nodosa</i>	28 (93,3)	2 (6,7)
Cephalotini sp.	<i>T. nodosa</i>	10 (91)	1 (9)
Vespidae			
<i>Polybia</i> sp.	<i>H. heptaphyllus</i>	0	0
<i>Brachygastra lecheguana</i>	<i>F. dichotoma</i>	0	11 (100)
Scoliidae			
<i>Campsomeris</i> sp.	<i>F. dichotoma</i>	460 (80,9)	108 (19,1)
Diptera			
Syrphidae			
<i>Copestylum sexmaculatum</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	13 (100)	0
<i>Palpada pusilla</i>	<i>T. nodosa</i>	203 (100)	0
Sarcophagidae			
Sarcophagidae sp. 1	<i>H. heptaphyllus</i>	0	0
Sarcophagidae sp. 2	<i>F. dichotoma</i>	0	0
Sarcophagidae sp. 3	<i>F. dichotoma</i>	0	0
Sarcophagidae sp. 4	<i>T. nodosa</i>	0	0
Tephritidae			
Tephritidae sp. 1	<i>T. nodosa</i>	0	0
Tephritidae sp. 2	<i>H. heptaphyllus</i>	0	0
Lepidoptera			
Pieridae			
<i>Phoebis sennae</i>	<i>H. heptaphyllus</i>	4 (100)	0
Coleoptera			
Chrysomelidae			
<i>Diabrotica speciosa</i>	<i>F. dichotoma</i>	1 (50)	1 (50)
<i>Diabrotica speciosa</i>	<i>T. nodosa</i>	9 (100)	0
<i>Diabrotica speciosa</i>	<i>T. nodosa</i>	8 (100)	0

bosque. Durante sus visitas, estas aves recorrían numerosas flores de cada inflorescencia, luego se posaban en perchas, defendían el parche floral y volvían a visitar flores de la misma inflorescencia o de otras cercanas.

Visitantes florales ladrones de néctar

Fueron observados numerosos individuos *X. nigrocincta* comportándose como ladrones de néctar en *H. heptaphyllus* y *F. dichotoma*. Como consecuencia de un tamaño corporal que no permite

el ingreso a las flores, los mismos extraían el néctar a través de perforaciones en el tubo floral realizadas previamente por aves o, realizados por ellos por medio de sus fuertes galeas. En *H. heptaphyllus*, además fueron identificadas como ladrones de néctar varias especies de aves: los picaflor *H. chrysurus* y *C. aureoventris*, además de realizar visitas legítimas, fueron observados en un elevado número de flores y en la mayoría de las plantas florecidas libando néctar sin realizar contacto con los órganos fértiles de las flores y los icteridos *Icterus cayanensis*, *Cacicus chrysopterus* y *C. solitarius*, que para libar el néctar, cortaban la base de la corola generando un daño importante. En *F. dichotoma*, además del mencionado abejorro, otros visitantes florales que no transportaban granos de polen y fueron observados consumiendo néctar, fueron *Camponotus* sp. 1, *Campsomeris* sp. y Sarcophagidae. sp 4 (Tabla 3).

Sistema reproductivo

Las tres especies en estudio produjeron mayor proporción de frutos formados bajo el tratamiento de polinización cruzada manual (Tabla 4), siendo las diferencias entre éste y cualquiera de los demás tratamientos altamente significativas (análisis log-lineal; $\chi^2=1082,8$; $\chi^2=2378,5$ y $\chi^2=101,7$, para *H. heptaphyllus*, *T. nodosa* y *F. dichotoma*, respectivamente, $P<0,001$ para las tres especies). Sin embargo, la proporción de frutos formados entre los demás tratamientos no difirió significativamente para ninguna de las especies (análisis log-lineal; $\chi^2=5,350$, $P=0,147$; $\chi^2=2,741$, $P=0,098$; $\chi^2=0,554$ $P=0,907$, para *H. heptaphyllus*, *T. nodosa* y *F. dichotoma*, respectivamente). Si bien la polinización cruzada manual incrementó la tasa de fructificación, no influyó sobre la tasa de formación de semillas. La diferencia en el número de semillas por fruto entre frutos formados por polinización libre y frutos logrados por polinización cruzada manual (Tabla 4), no fue significativa en ninguna de las tres especies (pruebas de Mann-Whitney; $U=475,0$; $U=206,0$ y $U=318,0$; para *H. heptaphyllus*, *T. nodosa* y *A. corallina*, respectivamente; $P>0,05$ en los tres casos).

Éxito reproductivo materno

El éxito reproductivo materno observado fue muy bajo en las tres especies (Tabla 4). Los valores del índice de éxito reproductivo materno calculado

fueron cercanos a 0 (RRS=0,0017-0,0563%), indicando que de la totalidad de óvulos disponibles sólo una fracción muy pequeña logró formar semillas, debido principalmente a una baja relación fruto/flor (*fruit set*, Tabla 4).

DISCUSIÓN

El presente estudio aporta información acerca de la biología reproductiva de ejemplares leñosos característicos de las formaciones boscosas del NE de Argentina. Las poblaciones de *Handroanthus heptaphyllus* y *Fridericia dichotoma* son estudiadas por primera vez, mientras que en el caso de *Tabebuia nodosa*, el conocimiento sobre aspectos reproductivos (Gibbs & Bianchi, 1999) se ve complementado en los aspectos de elenco de polinizadores, naturaleza de las recompensas florales, y limitación polínica del éxito reproductivo.

Biología floral

En las flores de las tres especies fueron observados dos sistemas de separación en la presentación del polen y la receptividad estigmática: dicogamia incompleta (protandria) y hercogamia homomórfica (Lloyd & Webb, 1986). En estas especies, como ocurre en el resto de las Bignoniaceae (Gentry, 1974b, Stephenson 1982), fue observado el cierre de lóbulos estigmáticos luego de polinizarlos manualmente (Torretta, obs. pers.). Se considera que este mecanismo refuerza la hercogamia posicional (Webb & Lloyd, 1986).

Las flores de las especies estudiadas corresponden a dos de los tipos morfológicos definidos por Gentry (1974a,b). *H. heptaphyllus* y *F. dichotoma* presentan el tipo *Anemopaegma*, caracterizado por el desarrollo de flores de tamaño mediano, tubulares-campanuladas, de textura delicada o firme y tubo ligeramente comprimido. Este tipo morfológico es compartido por la mayoría de las Bignoniaceae (Gentry, 1980), y en el clado neotropical Bignoniaceae representa la condición predominante (Alcantara & Lohmann 2010). Por otro lado, las flores de *T. nodosa* se consideran de un tipo intermedio entre los tipos *Anemopaegma* y *Cydista*, caracterizado por poseer flores medianas, tubulares-infundibuliforme, de garganta mas estrecha que el anterior, tubo dorso-ventralmente comprimido, y textura usualmente delicada (Gentry,

Tabla 4. Número (expresados como valores medios \pm desvío estándar) y rango de semillas por fruto obtenidos por tratamiento de polinización cruzada manual y polinización libre. Resultados de los cinco tratamientos realizados para estudiar el sistema reproductivo (expresados como porcentaje de flores convertidas en frutos). Relación semilla/óvulo (seed set) y fruto/flor (fruit set) y éxito reproductivo materno de tres especies de Bignoniaceae de la reserva El Bagual, Formosa, Argentina.

		<i>Handroanthus heptaphyllus</i>	<i>Tabebuia nodosa</i>	<i>Fridericia dichotoma</i>
Frutos obtenidos por polinización cruzada	N° de semillas	164,6 \pm 52,9 (61/4)	74,6 \pm 25,9 (21/5)	16,9 \pm 4,7 (35/3)
	rango	70--322	31--127	10--31
Frutos obtenidos por polinización libre	N° de semillas	179,4 \pm 52,5 (20/4)	78,3 \pm 24,6 (20/4)	15,5 \pm 4,4 (20/4)
	rango	70--254	42--115	10--22
Sistema reproductivo	Autopolinización espontánea	0 (195/6)	s.d.	0 (88/9)
	Autopolinización manual	0 (263/6)	s.d.	0 (96/9)
	Polinización cruzada manual	56,3 (96/6)	46,9 (32/7)	29,6 (105/9)
	Anemofilia	0,9 (226/6)	0 (43/7)	0 (321/9)
	Polinización libre / control	1,7 (295/6)	8,6 (70/7)	0,3 (1334/9)
a)	relación semilla/óvulo (<i>seed set</i>)	0,82	0,67	0,55
b)	relación fruto/flor (<i>fruit set</i>)	0,017	0,086	0,03

1974b). Este tipo intermedio es característico de varias especies de *Tabebuia s.l.* (Gentry, 1974b).

Polinizadores y visitantes florales

Gentry (1974b) comenta que las especies con flores de tipo *Anemopaegma* son polinizadas principalmente por abejas medianas a grandes. A su vez, Frankie & Haber (1983) establecieron que abejas del mismo tamaño son los principales polinizadores de árboles con floración en masa ("mass flowering"). Ambas afirmaciones son consistentes con lo observado en el presente trabajo, ya que *H. heptaphyllus* y *F. dichotoma* tienen flores del tipo *Anemopaegma*, y floración en masa, y fueron visitadas principalmente por himenópteros de tamaño corporal mediano (1-1.5 cm long). El comportamiento de forrajeo de estos insectos sugiere que son sus principales polinizadores. Sus visitas fueron legítimas e involucraron a pocas flores. Al ingresar a las flores, estos visitantes contactan primero la superficie receptiva del estigma con el dorso del tórax, y luego tocan los estambres. Después de libar néctar en el fondo del tubo de la corola, salen caminando hacia atrás y contactan la porción no receptiva del estigma. Esta secuencia promueve la transferencia de polen entre flores y evita la autopolinización.

Estos resultados obtenidos respecto al gremio de polinizadores coinciden con otros especies de Bignoniaceae con flores de tipo *Anemopaegma*, como *Handroanthus guayacan* (Seeman) Grose (Bawa et al., 1985), *H. ochraceus* (Cham.) Mattos y *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. (Barros, 2001), *T. rosea* (Bertol.) A. DC. y *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) (Frankie et al., 1983), *Arrabidaea conjugata* (Vell.) Mart. (Rodrigues Correia et al., 2005), *A. brachypoda* (DC.) Bor., *A. triplinervia* (Mart. ex DC.) Baill. ex Bureau y *Fridericia samyoides* (Cham.) L.G. Lohmann (Yanagizawa & Maimoni-Rodella, 2007).

La abeja doméstica no debería ser considerada como polinizador eficiente debido a su tendencia a visitar numerosas flores de una misma inflorescencia y numerosas inflorescencias dentro de un mismo individuo. Estas visitas secuenciales en flores de un mismo individuo aumentan la geitonogamia (Klinkhamer & de Jong, 1993), generando deposición de polen propio en los estigmas. En especies autoincompatibles, como las aquí estudiadas, este fenómeno tiene dos efectos negativos: 1) implica malgasto de polen, ya que el polen propio no llevará a la formación de semillas; 2) interfiere con la recepción de polen de otros

individuos, ya sea a través de la oclusión estigmática o como consecuencia de interferencia fisiológica con el crecimiento de polen compatible (Kay, 1987).

El papel de las aves en la polinización de estas especies podría ser considerado de importancia secundaria. Los colibríes e ictéridos libaron néctar de gran cantidad de flores de *H. heptaphyllus*, pero la mayoría de las veces lo hacían de manera ilegítima, destruyendo muchas flores y permaneciendo un tiempo prolongado en el mismo individuo. Este último aspecto del comportamiento es similar al de la abeja doméstica, y probablemente también genera grandes niveles de geitonogamia. Los colibríes que se observaron sobre las flores de *T. nodosa* y *F. dichotoma* mostraron el mismo comportamiento.

Las hormigas, aunque no son polinizadores, merecen mención especial, debido a que probablemente desempeñen un papel mutualístico adicional. Muchas especies de Bignoniaceae, además de poseer compuestos químicos como protección primaria, tienen un sistema secundario de protección frente a los herbívoros basado en el establecimiento de mutualismo con hormigas (Gentry 1974b). Recientemente, Gonzalez (2011) reporta domacios y nectarios extraflorales en numerosas especies de bignoniáceas argentinas.

Las especies que poseen floración en masa estudiadas en Costa Rica por Frankie & Haber (1983), exhiben variación intraespecífica en la tasa de secreción de néctar. Esta estrategia convierte a la recompensa en un recurso variable que obliga a los visitantes florales a efectuar visitas a muchos individuos de la población, promoviendo la xenogamia. Una situación semejante fue observada en *F. dichotoma* y *T. nodosa*, quienes presentaron variación intraespecífica significativa en el volumen y la concentración de néctar producido.

Otros fenómenos que pueden favorecer el movimiento de los polinizadores entre individuos son: (1) la interacción agresiva entre los polinizadores (Frankie, 1975), y (2) la atracción de predadores de polinizadores, principalmente, aves insectívoras denominadas “anti-polinizadores” (Gentry 1978). Respecto a esta última opción, las especies de aves insectívoras halladas en *H. heptaphyllus*, bien podrían actuar como anti-polinizadores.

Si bien en *T. nodosa* se capturaron varias especies de visitantes florales, ninguna de ellas parece constituir un polinizador principal de esta planta. Los insectos capturados visitaban las flores, la

mayoría de las veces, de manera ilegítima, y cuando lo hacían legítimamente recorrían varias flores del mismo individuo generando un traspaso inefectivo del polen propio. Gentry (1974b) menciona que las especies cuyo patrón de floración es el denominado “*steady state modified*” (pocas flores abiertas a la vez, 1-2 días de longevidad floral, comienzo de la antesis temprano a la mañana, fenología floral de 1-3 meses, con poca o ninguna sincronización entre individuos), y que además presentan morfología floral del tipo *Cydista*, son polinizadas por abejas que siguen rutas de forrajeo establecidas o “*trapliners*”, sin embargo, no se capturaron abejas con este tipo de comportamiento de forrajeo.

Sistema reproductivo

Los resultados obtenidos en las pruebas de compatibilidad indican la existencia de xenogamia obligada en las tres especies estudiadas. La autoincompatibilidad observada en *H. heptaphyllus*, difiere a lo observado por Bittencourt Jr. & Semir (2005) para la misma especie (citada como *Tabebuia heptaphylla*). Estos autores encontraron formación de frutos a través de auto-polinización manual en un individuo cultivado (de los tres estudiados).

Como se mencionó anteriormente, *T. nodosa* es una especie que posee autoincompatibilidad de acción retrasada (LSI, late-acting self-incompatibility) (Gibbs & Bianchi, 1999). En especies con este tipo de sistema reproductivo, los tubos polínicos propios crecen a través del estilo y malgastan los óvulos ya que estos indefectiblemente terminan por abortar, disminuyendo el éxito reproductivo materno (Vaughton & Ramsey, 1995). Esto se considera una fuerte presión selectiva contra la floración en masa en especies auto-incompatibles (de Jong *et al.*, 1992). Se ha comprobado que varias especies de la familia Bignoniaceae, y especies de los géneros *Fridericia*, *Handroanthus* y *Tabebuia*, poseen este tipo de sistema reproductivo (Gibbs & Bianchi, 1993; 1999; Amaral, 1992 en Gibbs & Bianchi, 1999; Bittencourt Jr. *et al.*, 2003). Si bien no hemos profundizado el estudio en este aspecto, posiblemente, *H. heptaphyllus* y *F. dichotoma* posean el mismo mecanismo de autoincompatibilidad (aunque ver Bittencourt Jr. & Semir, 2005).

Éxito reproductivo materno

El éxito reproductivo materno disminuye cuando

son pocas las flores que forman frutos y/o pocos los óvulos que se transforman en semillas. Una menor formación de frutos que de flores podría explicarse por la limitación en la obtención de algún recurso (Stephenson, 1981; Niesenbaum, 1999). Dos recursos limitantes son la limitación polínica, (en sus componentes cuantitativos y cualitativos), y la limitación por recursos (Vaughton & Ramsey 1995). En este sentido, la limitación del éxito reproductivo materno debido a la recepción inadecuada de granos de polen (causada por una limitación polínica cuanti- y/o cualitativa), parece ser un fenómeno común en las plantas (Burd 1994, Ashman et al. 2004).

En las tres especies estudiadas, el bajo éxito reproductivo, fue consecuencia del déficit en la formación de frutos a partir del número de flores expuestas a los polinizadores, es decir, bajo *fruit set* (entre 0,017 y 0,086). Este reducido éxito reproductivo sería consecuencia de la baja calidad del servicio de polinización. La causa de esto puede hallarse en un bajo número de visitas de polinizadores, y/o la prolongada permanencia de inefectivos visitantes florales.

Las tres especies poseen un servicio de polinización de baja calidad que determina que pocas flores inicien frutos. Pero si hay formación de fruto, entre el 55% y el 82%, de los óvulos forman semillas (*seed set*). Las pruebas de adición de polen sobre el estigma son una buena herramienta para determinar la existencia de limitación polínica (Vaughton & Ramsey 1995). El agregado manual de polen de individuos coespecíficos aumentó el éxito reproductivo materno, evidenciado en el aumento de la tasa de formación de frutos entre uno y dos órdenes de magnitud en *H. heptaphyllus*, *T. nodosa* y *F. dichotoma* (33,1x, 5,5x y 98,7x, respectivamente). A su vez, no se observó un aumento en el número de semillas por frutos formados por polinización cruzada manual, al comparar con el control. Young & Young (1992) señalan que los incrementos en el éxito reproductivo materno asociados a un incremento en la polinización, usualmente son considerados como evidencia de limitación polínica o de polinizadores. Nuestros resultados confirmarían esta afirmación y consideran la disponibilidad de polen (de buena calidad) como la variable limitante del éxito reproductivo materno de las poblaciones de estas tres especies de Bignoniaceae en el NE de Argentina.

AGRADECIMIENTOS

A Diego Medan y Alicia Basilio, quienes dirigieron este trabajo como parte de tesis de Licenciatura de JPT; a Alparamis S.A. por permitir trabajar en la Reserva “El Bagual”; a Alejandro Di Giacomo por la ayuda en la Reserva “El Bagual”; a Arturo Roig Alsina por la determinación de los visitantes florales, a Norberto Bartoloni por su ayuda con el análisis estadístico de los datos y a N. Montaldo por la colaboración en el trabajo con redes de niebla para la captura de los picaflores. La lectura crítica de dos revisores anónimos enriquecieron una versión preliminar del manuscrito. J.P.T. es miembro de CONICET, Argentina.

BIBLIOGRAFÍA

- AGRESTI, A. 2002. *Categorical Data Analysis*, 2nd edn. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- ALCÁNTARA, S. & L. LOHMANN. 2010. Evolution of floral morphology and pollination system in Bignoniaceae (Bignoniaceae). *Amer. J. Bot.* 97: 782-796.
- ARBO, M. M. 1999. Bignoniaceae. In: F. ZULOAGA & O. MORRONE (eds.), Catálogo de Plantas Vasculares de la Republica Argentina. II. Acanthaceae-Euphorbiaceae (Dicotyledoneae), pp. 361-374. St. Louis. Missouri Botanical Garden Press.
- ASHMAN, T. L., T. M. KNIGHT, J. A. STEETS, P. AMARASEKARE, M. BURD, D. R. CAMPBELL, M. R. DUDASH, M. O. JOHNSON, S.J. MAZER, R. J. MITCHELL, M. T. MORGAN & W. G. Wilson. 2004. Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology* 85: 2408-2421.
- BARROS, M. G. 2001. Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. and *T. ochracea* (Cham.) Standl. (Bignoniaceae) in Central Brazil cerrado vegetation. *Rev. Brasil. Bot.* 24: 255-261.
- BAWA, K. S., S. H. BULLOCK, D. R. PERRY, R. E. COVILLE & M. H. GRAYUM. 1985. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. II. Pollination systems. *Amer. J. Bot.* 72: 346-356.
- BERTIN, R. I. 1982. Floral biology, hummingbird pollination and fruit production of trumpet creeper (*Campsis radicans*, Bignoniaceae). *Amer. J. Bot.* 69: 122-134.
- BITTENCOURT JR., N. S., P. GIBBS & J. SEMIR. 2003. Histological study of post-pollination events in *Spathodea campanulata* Beauv. (Bignoniaceae), a species with late-acting self-incompatibility. *Ann. Bot.* 91: 827-834.

- BITTENCOURT JR., N. S. & J. SEMIR. 2004. Pollination biology and breeding system of *Zeyheria montana* (Bignoniaceae). *Plant Syst. Evol.* 247: 241–254.
- BITTENCOURT JR., N. S. & J. SEMIR. 2005. Late-acting self-incompatibility and other breeding systems in *Tabebuia* (Bignoniaceae). *Int. J. Plant Sci.* 166: 493–506.
- BURD, M. 1994. Bateman's principle and plant reproduction: the role of pollen limitation in fruit and seed set. *Bot. Rev.* 60: 83–139.
- CABRERA, A. L. 1971. Fitogeografía de la república Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 14: 1–42.
- DAFNI, A. 1992. *Pollination ecology: a practical approach*. New York. Oxford University Press.
- DEMAIO, P., U. O. KARLIN & M. MEDINA. 2002. *Árboles nativos del Centro de Argentina*. Ed. Lola, Buenos Aires. 210 pp.
- DI GIACOMO, A. 2001. Bosques. In: Estancia y Reserva El Bagual. GOTZ, E. & A. DI GIACOMO (eds.). Buenos Aires. Alparamis.
- DUTRA, J. C. S. & V. L. L. MACHADO. 2001. Entomofauna visitante de *Stenolobium stans* (Juss.) Seem (Bignoniaceae), durante seu periodo de floracao. *Neotrop. Entomol.* 30: 43–53.
- FABRIS, H. A. 1979. Bignoniaceae. In: Flora ilustrada de Entre Ríos. Vol. V, A. BURKART (ed.), pp. 504–526. Buenos Aires. INTA.
- FABRIS, H. A. 1993. Bignoniaceae. In: Flora de la Provincia de Jujuy. Vol IX, A. L. CABRERA (ed.), pp. 226–262. Buenos Aires. INTA.
- FRANKIE, G. W. 1975. Tropical forest phenology and pollinator plant coevolution. In: GILBERT, L. & P. H. RAVEN (eds.), *Coevolution of animals and plants*, pp. 192–209. Austin. Texas University Press.
- FRANKIE, G. W. & W. A. HABER. 1983. Why bees move among mass-flowering neotropical trees. In: JONES, C. E. & R. J. LITTLE (eds.), *Handbook of experimental pollination biology*, pp. 360–372. New York. Van Nostrand Reinhold.
- FRANKIE, G. W. & W. A. HABER, P. A. OPLER & K. S. BAWA. 1983. Characteristics and organization of the large bee pollination system in the Costa Rican dry forests. In: JONES, C. E. & R. J. LITTLE (eds.), *Handbook of experimental pollination biology*, pp. 411–447. New York. Van Nostrand Reinhold.
- GANDOLPHI, G. & N. S. BITTENCOURT JR. 2010. Sistema reproductivo do ipê-branco – *Tabebuia roseo-alba* (Ridley) Sandwith (Bignoniaceae). *Acta Bot. Bras.* 24: 840–851.
- GENTRY, A. H. 1974a. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica* 6: 64–68.
- GENTRY, A. H. 1974b. Coevolutionary patterns in Central American Bignoniaceae. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 61: 728–759.
- GENTRY, A. H. 1978. Anti-pollinators for mass-flowering plants? *Biotropica* 10: 68–69.
- GENTRY, A. H. 1980. Bignoniaceae - Part I (Crescentieae and Tourrettieae). *Flora Neotropica Monogr.* 25: 1–131.
- GENTRY, A. H. 1990. Evolutionary patterns in Neotropical Bignoniaceae. *Mem. New York Bot. Gard.* 55: 118–129.
- GENTRY, A. H. 1992a. A synopsis of Bignoniaceae ethnobotany and economic botany. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 79: 53–64. 57.
- GENTRY, A. H. 1992b. Bignoniaceae-Part II (Tecomeae). *Flora Neotropica Monogr.* 56: 1–370.
- GIBBS, P. E. & M. B. BIANCHI. 1993. Post-pollination events in species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late-acting self-incompatibility. *Bot. Acta* 106: 64–71.
- GIBBS, P. E. & M. B. BIANCHI. 1999. Does late-acting self-incompatibility (LSI) show family clustering? Two more species of Bignoniaceae with LSI: *Dolichandra cynanchoides* and *Tabebuia nodosa*. *Ann. Bot.* 84: 449–457.
- GOBATTO-RODRIGUEZ, A. A. & M. N. STORT. 1992. Biología floral e reproducción de *Pyrostegia venusta* (Ker-Gawl) Miers (Bignoniaceae). *Rev. Bras. Bot.* 15: 37–41.
- GONZALEZ, A. M. 2011. Domacios y nectarios extraflorales en Bignoniáceas: componentes vegetales de una interacción mutualística. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 46: 271–288.
- JAMES, E. A. & R. B. KNOX. 1993. Reproductive biology of the Australian species of the genus *Pandorea* (Bignoniaceae). *Austr. J. Bot.* 41: 611–626.
- de JONG, T. J., P. G. L. KLINKHAMER & M. J. VAN STAALDUINEN. 1992. The consequences of pollination biology for selection of mass or extended blooming. *Funct. Ecol.* 6: 606–615.
- KAY, Q. O. N. 1987. The comparative ecology of flowering. *New Phytol.* 106: 265–281.
- KLINKHAMER, P. G. L. & T. J. de JONG. 1993. Attractiveness to pollinators: a plant's dilemma. *Oikos* 66: 180–184.
- LLOYDS, D. G. & C. J. WEBB. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms. I. Dichogamy. *New Zeal. J. Bot.* 24: 135–162.
- LÓPEZ, J. A., E. I. LITTLE, G. F. RITZ, J. S. ROMBOLD & W. J. HAHN. 1987. Árboles comunes del Paraguay, Nande Yvyra Mata Kuera. Asunción-Washington DC. Cuerpo de Paz. Colección e Intercambio de Información.
- MATURO, H. M., L. J. OAKLEY & D. E. PRADO. 2005. Vegetación y posición fitogeográfica de la Reserva El Bagual. In: DI GIACOMO, A. G. & S. F. KRAPOVICKAS (eds.), *Historia natural y paisaje*

- de la reserva El Bagual, Provincia de Formosa, Argentina, *Temas de Nat. & Cons.* 4: 59-73.
- MOTTA MAUÉS, M., P. E. OLIVEIRA & M. KANASHIRO. 2008. Pollination biology in *Jacaranda copaia* (Audl.) D. Don. (Bignoniaceae) at the “Floresta Nacional do Tapajós”, Central Amazon, Brazil. *Rev. Brasil. Bot.* 31 (3): 517-527.
- NIESENBAUM, R. A. 1999. The effects on pollen load size and donor diversity on pollen performance, selective abortion, and progeny vigor in *Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae). *Amer. J. Bot.* 86: 261-268.
- OLMSTEAD, R. G., M. L. ZJHRA, L. G. LOHMANN, S. O. GROSE & A. J. ECKERT. 2009. A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. *Amer. J. Bot.* 96: 1731-1743.
- RODRIGUES CORREIA, M. C., M. C. PINHEIRO & H. ALVES DE LIMA. 2005. Biología floral e polinização de *Arrabidaea conjugata* (Vell.) Mart. (Bignoniaceae). *Acta Bot. Bras.* 19: 501-510.
- STEPHENSON, A. G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12: 253-279.
- STEPHENSON, A. G. 1982. When does outcrossing occur in a mass-flowering plant? *Evolution* 36: 762-767.
- STEPHENSON, A. G. & W. W. THOMAS. 1977. Diurnal and nocturnal pollination of *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae). *Syst. Bot.* 2: 191-198.
- STOCKMARR, J. 1970. Species identification of *Ulmus* pollen. *Danm. Geol. Unders.* IVR 4(11): 1-19.
- TORRETTA, J. P. 2004. Biología reproductiva de tres especies de Bignoniaceae en la Reserva Ecológica “El Bagual”, NE de Argentina. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.
- VAUGHTON, G. & M. RAMSEY. 1995. Pollinators and seed production. In: KIGEL, J. & G. GALILI (eds.), Seed development and germination, pp. 475-490. New York. Marcel Dekker.
- WEBB, C. J. & D. G. LLOYD. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms. II. Herkogamy. *New Zeal. J. Bot.* 24: 163-178.
- WEBER, A. & S. VOGEL. 1986. The pollination syndrome of *Deplanchea tetraphylla* (Bignoniaceae). *Plant Syst. Evol.* 154: 237-250.
- YANAGIZAWA, P. Y. & R. de C.S. MAIMONI-RODELLA. 2007. Floral visitors and reproductive strategies in five melittophilous species of Bignoniaceae in Southeastern Brazil. *Braz. Arch. Biol. Techn.* 50: 1043-1050.
- YOUNG, H. J. & T. P. YOUNG. 1992. Alternative outcomes of natural and experimental high pollen loads. *Ecology* 73: 639-647.

Recibido el 30 de marzo de 2012, aceptado el 29 de mayo de 2012.

