



TRABAJO DE INTENSIFICACIÓN FINAL DE INGENIERÍA
AGRONÓMICA

**Evaluación de las recompensas florales de líneas
parentales en un sistema de producción de semilla
híbrida de girasol (*Helianthus annuus* L.)**

Abril Rodríguez Gamberini

Docente tutor: Dra. Ing. Agr. Gisela Grandinetti

Docente consejero 1: Dra. Cecilia N. Pellegrini

Docente consejero 2: Dra. Ing. Agr. Soledad C. Villamil

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA

2024

Agradecimientos

Primeramente, a Dios, por su fidelidad, y a Jesús, por salvarme. 1 Cr. 28:20 (...) *Anímate y esfuérgate, y manos a la obra; no temas, ni desmayes, porque Jehová Dios, mi Dios, estará contigo; Él no te dejará ni te desamparará (...).*

A Juan Pablo, por ser mi amor, mi sostén, mi amigo, mi consejero. Por estar en las buenas y en las malas mucho más. Te amo.

A mis padres, Andrea y Fabián, que me dieron la posibilidad de estudiar la carrera que quise y me esperaron hasta que lo logré. A Mario y Vero que también son como mis padres, gracias por aceptarme y hacerme parte de sus vidas. A mis hermanos, Joaco, Manu, Maxi y Mate, los quiero muchísimo.

A mis cuatro abuelos, gracias por su apoyo. No hay como el amor de un abuelo, es enorme, incondicional y verdadero. Abuelo Orlando, espero que estés orgulloso y contento, como cuando apareciste en mis sueños; siempre te voy a llevar en mi corazón.

A Gise, mi tutora y amiga, gracias por guiarme en este trabajo, por enseñarme, por hacer que me guste trabajar en el laboratorio, por hacerme reír con tus locuras.

A Ceci, por su apoyo en este trabajo desde el primer momento y también por ser alguien a quien admiro mucho por su compromiso y sus valores, y por el amor que le tiene a esta hermosa profesión. Gracias por estar y recibirme con una sonrisa siempre que te pedí ayuda, no lo voy a olvidar.

A Sole, no hay suficientes palabras de agradecimiento. Me inspiraste muchas veces y me contagiaste el amor por los insectos. Gracias por haber estado siempre para cualquier consulta, por las charlas, por hacerme reír, y por tu valiosa guía.

Al Laboratorio de Estudios Apícolas (LabEA) por prestarme sus instalaciones para desarrollar mi trabajo de tesis. Doy gracias a Dios nuevamente por rodearme con personas tan valiosas, que aman su trabajo y me inspiraron tanto. Gracias a todos, en especial a Leti, por hacerme parte de su equipo de trabajo. También a Mati que me ayudó a tomar las muestras de pan de polen de las colmenas.

A mis amigos y futuros colegas, Mariana, Agustín, Laura y Lucía, que fueron fieles a nuestra amistad desde el comienzo de la carrera hasta el final. Gracias por tantos mates, momentos de estudio y también de diversión. Los quiero.

A mis amigos de siempre y también a los nuevos, gracias por creer en mí y apoyarme siempre que lo necesité.

A la Universidad Nacional del Sur y al Departamento de Agronomía, por permitirme estudiar y obtener este título de gran prestigio.

Al pueblo argentino que me permitió estudiar en la universidad pública.

Y nuevamente quiero agradecer a toda mi familia (padres, tías, hermanos, abuelos y novio) que siempre creyeron en mí, aun cuando yo misma no lo hice. Gracias por su apoyo incondicional y por su amor. Los amo.

Índice

Agradecimientos	2
Resumen.....	6
Introducción	8
Historia del cultivo de girasol.....	8
Producción y mercado del girasol en Argentina	8
Descripción morfofisiológica del girasol	9
Producción y obtención de semilla híbrida	12
Incidencia de la polinización	14
El néctar.....	15
El polen.....	17
Objetivo general.....	20
Objetivos particulares	20
Materiales y métodos	21
Ubicación del sitio de estudio y material vegetal	21
Caracterización edafoclimática	21
Parámetros evaluados.....	23
1. Estudio de la secreción del néctar.....	23
1.1 Porcentaje de flores secretoras	23
1.2 Néctar total secretado	24
1.3 Azúcar total y concentración del néctar	24
1.4 Néctar por flor y azúcar por flor.....	25
2. Estudio del polen.....	25
2.2 Identificación del origen botánico de los granos de polen	27
3. Morfometría del capítulo de girasol	28
4. Estudio de la vegetación	29
5. Visitas de polinizadores.....	29
Resultados y discusión	30
1. Estudio y caracterización del néctar	30
1.1 Flores secretoras	30
1.2 Néctar total secretado	30
1.3 Azúcar total y concentración del néctar	30
1.4 Néctar por flor y azúcar por flor.....	31

2. Estudio del polen.....	32
2.1 Granos de polen por flor (GPF)	32
2.2 Origen botánico del pan de polen.....	33
3. Morfometría del capítulo de girasol	35
4. Estudio de la vegetación	37
5. Visitas de polinizadores.....	39
Conclusiones.....	41
Bibliografía	43

Resumen

Se estudiaron las recompensas primarias (néctar y polen) y secundarias (señales visuales) que ofrecieron dos líneas parentales de girasol (*Helianthus annuus* L.) en un lote de producción de semilla híbrida en la localidad de Villalonga, y se relacionaron estos parámetros con su influencia en la polinización de dicho cultivo. Además, se registró la flora melífera acompañante y se realizó un breve estudio sobre los patrones de visitantes florales en este contexto. En el análisis del néctar, se compararon seis parámetros entre dos líneas parentales: una androfértil (M) y otra androestéril (H), encontrando que solo el parámetro de néctar por flor fue estadísticamente mayor en el parental M. Esto podría atribuirse al menor número de flores por capítulo del parental M, lo que permite una mayor recompensa en néctar por flor y menos gasto energético en comparación con el parental hembra (H). Se observó también una correlación negativa entre la cantidad total de néctar secretado y su concentración, con menor concentración en M y mayor en H. Al analizar los granos de polen por flor (GPF) en el capítulo del girasol, se encontró una tendencia distinta a la documentada por otros autores. Aunque generalmente se ha observado un patrón de aumento centrípeto en los GPF, en este estudio el sector interno contenía la menor cantidad de GPF. Es recomendable ampliar los estudios sobre la variabilidad de los GPF en los capítulos de girasol, para determinar si las diferencias son ocasionadas por factores genéticos o ambientales, o si la distribución es al azar. Respecto al origen botánico del pan de polen de tres colmenas, se encontró una limitada variedad de especies vegetales, con solo seis a ocho especies representando el 37% de la vegetación censada. La familia Brasicáceas fue la más representada, mientras que el girasol, siendo el principal recurso disponible de polen y néctar, mostró una baja representación en el pan de polen analizado. Esto sugiere una selectividad notable de *Apis mellifera* L. sobre los recursos florales, estimulada por su preferencia por pólenes de diversas especies vegetales que optimizan la ingesta de nutrientes esenciales para la cría. La flora que rodea el lote de producción estaba predominantemente compuesta por Asteráceas; sin embargo, las Brasicáceas fueron preferidas por *A. mellifera*, como se observó en el pan de polen. Este estudio de la vegetación junto con el pan de polen permite entender las preferencias de las abejas, evidenciando su disposición a buscar

recursos incluso a distancias considerables. Además, la baja calidad nutricional del polen del girasol plantea la necesidad de reconsiderar el concepto de flora competitiva y acompañante en relación a las especies en floración cercanas, sugiriendo que un equilibrio controlado de esta vegetación puede favorecer la sanidad y desarrollo de las colmenas sin interferir negativamente en el cultivo. Los estudios sobre recompensas secundarias revelaron que el parental H posee un mayor diámetro de capítulo y mayor número, largo y área de flores liguladas en comparación con M, concordante con otros estudios. Esto podría ser contraproducente para la polinización de semilla híbrida, ya que lo ideal es que los parentales mantengan homogeneidad para evitar que las abejas se inclinen por uno en detrimento del otro. Al observar las visitas de polinizadores, se evidenció que M tuvo una tasa de visitas superior en cantidad y diversidad de especies. Este comportamiento podría explicarse por el hecho de que M ofrece tanto néctar como polen, mientras que H solo aporta néctar. No obstante, es necesario repetir este estudio, ya que las condiciones climáticas del día de muestreo no permitieron el respaldo estadístico de estos resultados.

Introducción

Historia del cultivo de girasol

El girasol es una especie introducida, originaria del sureste de Estados Unidos y del norte de México, con una antigüedad aproximada de 3000 a 5000 años. Sin embargo, la explotación de esta especie para obtener aceite ocurrió recién en 1769 en Rusia, donde más tarde se llevarían a cabo trabajos de mejoramiento genético para producir un mayor número de semillas por capítulo con mayor contenido de aceite (Schneiter, 1997). Luego, este material sería llevado nuevamente hacia sus centros de origen, principalmente a Estados Unidos y Canadá, con el objetivo de producir aceite de girasol y continuar con su mejoramiento.

En Argentina el girasol fue introducido a fines del siglo XIX por colonos hebreos para consumo propio, logrando su difusión en las provincias de Entre Ríos, Santa Fe y Buenos Aires. Al principio se lo utilizaba como planta ornamental, para alimentación de aves y también para el consumo de sus semillas tostadas (ASAGIR, s.f.). Recién en el año 1930 comienza su expansión como oleaginosa gracias a los inmigrantes rusos que importaron materiales mejorados.

Actualmente, el girasol es cultivado desde el sudeste de la Región Pampeana hasta la Región Chaqueña, gracias a su gran plasticidad, la cual le permite adaptarse a una amplia variedad de ambientes (López Pereira *et al.*, 2006). En cuanto a su importancia en la cadena productiva, el girasol se encuentra en el cuarto puesto mundial como cultivo oleaginoso, precedido por los cultivos de palma, soja y colza, con una producción de 15 millones de toneladas promedio entre el 2020 y el 2022 (FAO, 2022).

Producción y mercado del girasol en Argentina

La máxima producción de girasol en nuestro país se dio en la campaña del 98/99 con una superficie sembrada de 4,6 millones de hectáreas y una producción de 7,1 millones de toneladas, llegando a representar en las exportaciones casi el 60% del aceite de girasol del mundo, según Traut (2022). A la par de este récord, los precios del girasol bajaron desincentivando su siembra en las siguientes campañas, sumado al atractivo de

la soja, que comenzó a posicionarse como el cultivo estrella de Argentina gracias a la alta demanda de China.

En la actualidad, Argentina se encuentra en el tercer puesto como principal productor de semilla de girasol, luego de Rusia y Ucrania (FAO, 2022). Respecto a la superficie sembrada, durante la campaña 22/23 nuestro país alcanzó las 2,5 millones de hectáreas y se obtuvieron 5 millones de toneladas (SAGyP, 2023). Argentina cuenta con tres grandes zonas productivas de girasol: la región norte, la región centro y la región sur; esta última es la más importante en términos productivos, ya que representa el 66% de la producción, mientras que la región centro es la más importante en cuanto a la industrialización del grano (Rodríguez Zurro, 2023) (Figura 1).

Girasol 2022/23 en Argentina

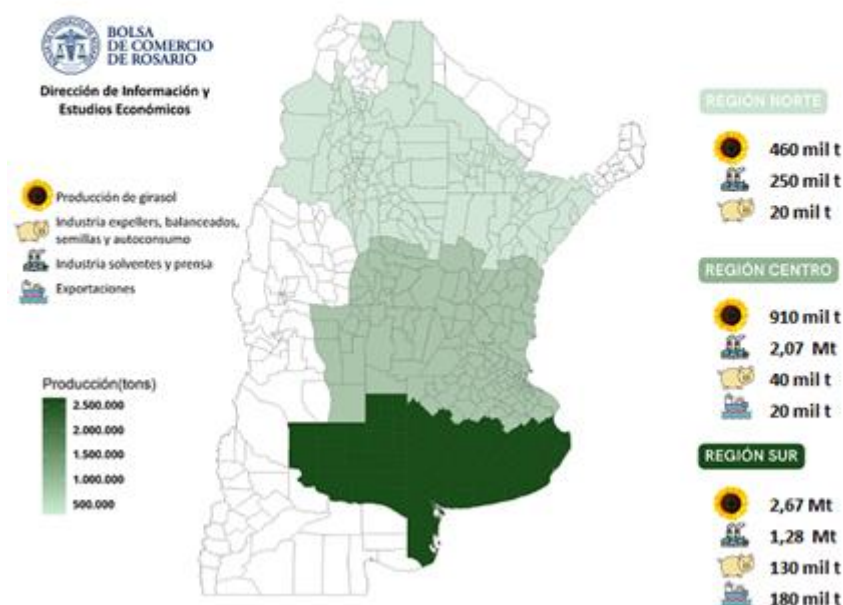


Figura 1 - Zonas productivas de girasol en Argentina. Tomado de: <https://www.bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal/balance-11>

Descripción morfofisiológica del girasol

Helianthus annuus es una especie de porte herbáceo, perteneciente a la familia de las Asteráceas. La planta de girasol cultivado es de ciclo anual, tiene un tallo principal erecto y macizo, no ramificado que se caracteriza por terminar en un capítulo, vulgarmente

denominado “cabeza”, que es el órgano que se cosecha. Sus hojas son alternas, grandes, ovadas o acorazonadas de margen aserrado, y al igual que el tallo son muy ásperas al tacto. La raíz es pivotante, profunda y puede captar agua hasta los dos metros de profundidad (Aguirrezábal *et al.*, 1996).

El capítulo es la inflorescencia elemental de la familia mencionada y, en el caso del girasol, es de tipo radiado ya que está conformado por flores liguladas en su margen y flores tubulosas en su interior (Figura 2). Las liguladas son estériles y cumplen la función de atraer polinizadores, mientras que las tubulosas son fértiles y en ellas se desarrollan los granos. Además, el capítulo es sostenido por brácteas, cuya función es protegerlo mientras está cerrado, y sus flores se disponen sobre un receptáculo común por donde llegan los fotoasimilados. Las flores tubulosas poseen cinco pétalos unidos entre sí formando una corola tubular que se desarrolla por encima del ovario. Los estambres son sinantéreos, es decir que están unidos entre sí por las anteras. El ovario ínfero da como fruto una cipsela, y presenta en su porción apical un nectario anular que rodea la base del estilo (Bernardello, 2007).

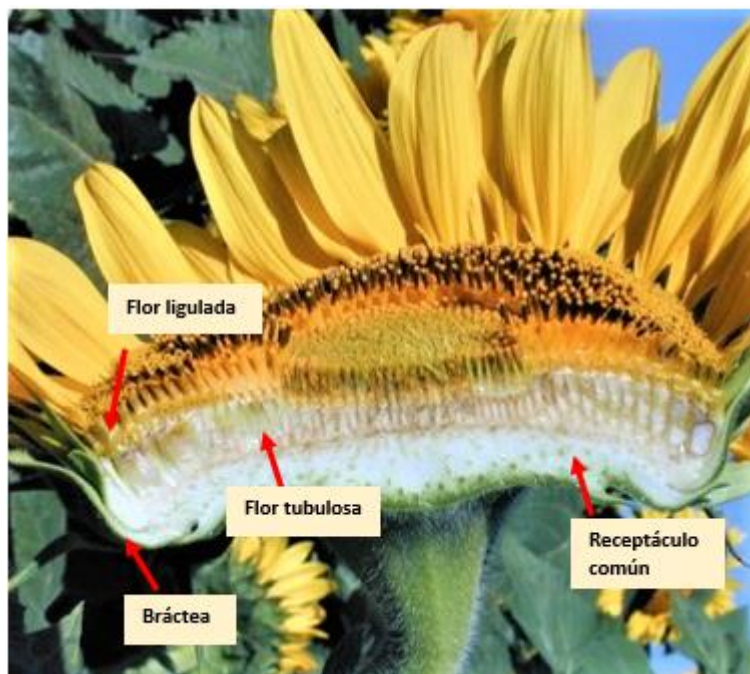


Figura 2 - Corte longitudinal del capítulo de girasol y sus estructuras.
Modificado de ASAGIR. URL: <https://www.asagir.org.ar/ver-galeria-fenologia-513>

La floración del girasol se desarrolla de manera centrípeta, es decir, las primeras flores que se abren son las exteriores, y las últimas en abrirse son las centrales. Por día abren de una a cuatro filas de flores, la longevidad floral es de 36-48 horas y la duración total de floración del capítulo varía entre 10 y 15 días (Torretta, 2007). Los estados reproductivos correspondientes al inicio de la floración se identifican en la escala fenológica como "R5", y se divide en sub-estados dependiendo del porcentaje de área del capítulo que completó dicho estadio (Schneider y Miller, 1981), por ejemplo, en R5.6 el 60% de las flores se encuentra en antesis (Figura 3).



Figura 3 - Capítulo de girasol en estadio R5.6.

En cuanto a requerimientos, el girasol es un cultivo muy rústico, que se adapta a diversos climas (templados, tropicales, mediterráneos). Necesita temperaturas ligeramente elevadas para desarrollarse correctamente, pero, a su vez, resiste las bajas temperaturas. Su sistema radical tolera períodos de sequía y le permite adaptarse a zonas semiáridas, siendo por esto un cultivo adecuado para zonas marginales como el SE y SO de la provincia de Buenos Aires.

Producción y obtención de semilla híbrida

A lo largo de la historia, los agricultores de todo el mundo realizaron un proceso de selección en diferentes cultivos de manera inconsciente, seleccionando las semillas de los mejores ejemplares logrados para volverlos a sembrar en la campaña siguiente, y así ir mejorando la calidad y los rendimientos. Actualmente, los trabajos de mejoramiento vegetal y las nuevas tecnologías le han permitido a la agricultura mundial ser más eficiente. No solo se aumentaron los rendimientos, sino que también se generaron cultivos más uniformes, resistentes a enfermedades y de mayor calidad para su consumo. En cultivos como el girasol, el maíz y el sorgo, esto se logró gracias a las técnicas de hibridación, que constan del cruzamiento de dos o más líneas endocriadas que dan como producto final una semilla híbrida con las mejores características de las líneas parentales, denominando a ese diferencial logrado *vigor híbrido*.

Los primeros híbridos comerciales de girasol fueron incorporados al país en 1975, luego del descubrimiento de la androesterilidad citoplasmática (Leclercq 1969) y los genes restauradores de fertilidad (Kinman 1970), lo que permitió la producción de semilla híbrida en gran escala. La androesterilidad es la incapacidad para producir polen funcional, y puede deberse a determinantes nucleares o citoplasmáticos, siendo este último el responsable del 90% de la producción mundial de semilla híbrida de girasol (Garayalde *et al.*, 2008). Para esto, se requiere del cruzamiento entre una línea androestéril (línea hembra, llamada línea A) y una línea mantenedora (línea B) dando como resultado un híbrido simple androestéril. Este último es el que se sembrará en los lotes de producción de semilla junto con la línea restauradora de fertilidad (línea R, androfértil). De esta manera, la semilla cosechada en esos lotes será comercializada para lograr un híbrido fértil que producirá granos en cantidad y calidad potenciada.

El girasol es una especie alógama, es decir que tiene fecundación cruzada, a pesar de que posee flores hermafroditas. Esto es así debido a un mecanismo llamado *dicogamia*, en el cual se da una separación temporal en la maduración de los sexos dentro de la misma flor o planta. Estudios muy antiguos (Putt, 1940) describieron que, en los pimpollos próximos a antesis durante la mañana, los filamentos de los estambres (órgano reproductivo masculino) se estiran, elevando así a las anteras hasta sobrepasar el tubo de la corola, dando lugar al comienzo la fase fértil masculina. Luego, la porción

basal del estilo se elonga a través del tubo de las anteras, empujando los granos de polen quedando así disponibles (presentación secundaria). En este momento, el pistilo (órgano reproductivo femenino) aún no es receptivo, y recién entre la tarde y la mañana siguiente las ramas del estilo exponen sus estigmas dando lugar a la fase femenina fértil. Para ese entonces, las anteras ya no están disponibles debido a que perdieron la turgencia necesaria para mantenerse elevadas. Esto se conoce como dicogamia *protándrica*, ya que la parte masculina madura antes que la femenina.

El girasol también presenta mecanismos de autoincompatibilidad, que se definen como la imposibilidad fisiológica, controlada genéticamente, de producir frutos por autofecundación. Ambas situaciones se explican como un mecanismo de carácter evolutivo que tiene como objetivo favorecer la heterogeneidad genética en la especie. Si bien en la actualidad los mejoradores genéticos han logrado cultivares comerciales autocompatibles que alcanzan el 80-90% de compatibilidad, Torretta (2007) observó que los frutos formados por polinización cruzada tienen mayor proporción de aceite.

En los sistemas de producción de semilla híbrida de girasol se suma a estas características reproductivas propias de la especie, la limitación espacial generada por la disposición en el lote de las líneas parentales que, para facilitar la siembra y la cosecha, son implantadas por separado. En estos sistemas, para conseguir una abundante oferta de polen, se siembra de forma alternada un número determinado de surcos de machos y hembras. Por ejemplo, se puede sembrar en una proporción de 6:2; es decir, 6 hileras de líneas hembras y 2 de machos (Figura 4).



Figura 4 - Lote de producción de semilla híbrida de girasol. a) Línea androfértil (macho), b) Línea androestéril (hembra).

Por otro lado, la sincronización de las floraciones de ambas líneas se obtiene realizando siembras desfasadas o diferidas (*Split de siembra*). En este caso, se siembran primero las líneas masculinas y aproximadamente al 60% de su emergencia se comienzan a sembrar las líneas femeninas.

En nuestro país, la producción de semilla híbrida de girasol ocupa un lugar relevante y se concentra principalmente en la provincia de Buenos Aires (López *et al.*, 2018), siendo liderada por empresas privadas, pero con la fundamental participación estatal del INTA, institución que ha lanzado al mercado importantes híbridos comerciales.

Incidencia de la polinización

El traslado del polen desde las anteras de los estambres hasta la parte femenina de la flor se conoce con el nombre de polinización y puede efectuarse de diversas maneras. En el caso de que se lleve a cabo por insectos, se denomina entomófila. La polinización es fundamental para que muchos ecosistemas funcionen; según la FAO (2024) $\frac{3}{4}$ de los cultivos más productivos del mundo dependen en gran parte de los polinizadores. En Argentina, el 74% de los cultivos dependen de la polinización (Gurini, 2020).

En los sistemas de producción de semilla híbrida de girasol, es fundamental contar con insectos polinizadores que trasladen el polen de una línea a la otra. Las características reproductivas descritas anteriormente sumadas a las del polen, cuyos granos tienen

estructura equinada, gran tamaño y están rodeados de pollenkitt, hace a su transporte dependiente de la acción de insectos (Putt, 1940).

La abeja melífera es el insecto más importante dentro de las producciones de semilla híbrida de girasol por ser su principal polinizador (Torretta, 2007). Para esto se contratan los servicios de polinización a los apicultores, que son los encargados de proveer las colmenas necesarias para garantizar la producción de semilla. La densidad de colmenas por hectárea varía según las características de la colonia y las del cultivo, la composición y abundancia de la flora apícola circundante, las poblaciones de polinizadores naturales, y las características climáticas (Grandinetti, 2022), pero la recomendación suele ser de 2 a 3 colmenas por hectárea.

La efectividad de las abejas como polinizadoras depende de factores inherentes a las colmenas y también de otros como la presencia de flora competitiva, las condiciones meteorológicas y la preferencia diferencial por las líneas parentales (Gallez *et al.*, 2000). Torretta (2007) observó que, durante sus visitas al girasol, los individuos de *A. mellifera* recorrían numerosas flores buscando néctar en la base del tubo corolino, y a medida que caminaban por el capítulo, las abejas se cubrían de polen.

En esta relación simbiótica entre el cultivo y la abeja, adquieren gran importancia el polen y el néctar (recompensas primarias) como los principales productos de origen vegetal que los polinizadores obtienen al visitar las estructuras reproductivas, así como las señales visuales (recompensas secundarias), que indican la presencia de estas sustancias alimenticias en las flores (Simpson y Neff, 1981). Las diferencias presentadas en las recompensas florales y sus respuestas asociadas han demostrado la selectividad de los visitantes florales a distintos genotipos de girasol (Cerrutti y Pontet, 2016). Según Mallinger y Prasifka (2017), estudiar los rasgos florales que incentivan la atracción de polinizadores podría contribuir no sólo a obtener mayores rendimientos en las cosechas, sino a mejorar los recursos alimenticios para los polinizadores.

El néctar

El néctar es una secreción dulce que producen algunas plantas, y consiste en una solución de agua y azúcares en distintas concentraciones, secretada por los nectarios, cuya función es atraer y recompensar a los polinizadores (Vear *et al.*, 1990). Esta

secreción proviene de la savia, y sufre una serie de modificaciones en su camino hasta las células secretoras del nectario. La producción de néctar en las flores se renueva constantemente. Es importante tener en cuenta que cuando la abeja (o cualquier otro insecto) se lleva el néctar, estimula a la planta a producir más, favoreciendo que continúe el proceso de polinización (Gutián *et al.*, 1995).

La composición química del néctar es variable según la especie vegetal, pero, a grandes rasgos, está compuesto por entre 5 y 80% de azúcares de distintos tipos. Los más importantes son sacarosa, glucosa y fructosa (Percival 1961; Van Handel *et al.* 1972; Baker & Baker 1983; Gottsberger *et al.* 1984; Freeman *et al.* 1985, 1991). Dentro de los azúcares, también podemos encontrar xilosa, ramnosa, maltosa, etc., pero en menor proporción que los ya mencionados (Jackson y Nicolson, 2002). También posee enzimas, aminoácidos (Baker y Baker, 1983; Nepi *et al.*, 2012), antioxidantes, lípidos (Kram *et al.*, 2008), vitaminas (Griebel y Hess, 1940), alcaloides (Richardson, 2015), ácidos orgánicos, aceites esenciales y agua, entre otros componentes.

Se sabe que el néctar del girasol está compuesto por entre 30 y 70% de azúcares, lo cual es una concentración bastante alta comparada con otros cultivos, como la colza y algunos frutales. Entre los principales tipos de azúcares se encuentran fructosa, glucosa y sacarosa; los primeros dos representan un 30-50% del total de azúcares (Pham-Delegue *et al.*, 1990). Cabe aclarar que la concentración del néctar determina su viscosidad y se relaciona estrechamente con el pecoreo (Baker y Baker, 1983; Heyneman, 1983), es por esto que la atractividad de una planta nectarífera dependerá de dos factores: el contenido de azúcar del néctar y la energía que gastan los polinizadores al colectarlo (Heinrich, 1979; Harder y Cruzan, 1990). Esto determinará que los polinizadores prefieran néctares con mayores concentraciones de azúcar, siempre que la mayor viscosidad no exceda un nivel que dificulte su succión.

En la producción de semilla híbrida de girasol, la secreción de néctar tiene un rol muy importante ya que es la única recompensa disponible en las líneas parentales femeninas, que no producen polen. En este sistema, es esencial que las abejas sean atraídas por ambos tipos de parentales y que se muevan entre ellos en el momento de coincidencia de la disponibilidad de polen y la receptividad de los estigmas (Martin y Farina, 2016).

La caracterización de esta recompensa en el girasol y en cada genotipo, es clave para entender la relación planta-polinizador de este sistema (Grandinetti, 2022).

El polen

Los granos de polen son las células sexuales masculinas de las plantas con flores. Se forman en el interior de los estambres y, una vez maduros, son liberados. Su función biológica es alcanzar la parte femenina de una flor de su misma especie y hacer posible la fecundación, produciendo un fruto o semilla que dará continuidad a la especie.

En el caso de las especies entomófilas, como se explicó anteriormente, la polinización se da mediante los insectos que actúan como vectores, ya que su alimento es el polen. De hecho, es la mayor fuente de lípidos, vitaminas, minerales y proteínas para la alimentación de la colmena, en especial de la cría de abeja (Nicolson y Human, 2013).

Cada especie vegetal posee granos de polen diferentes tanto en su morfología como en su calidad nutricional, especialmente en su porcentaje de proteína y tipo de aminoácidos. El contenido de proteínas del polen varía de 2,5 a 61 % según la especie (Roulston *et al.*, 2000). Las abejas seleccionan pólenes de distintas especies para tener una dieta más balanceada, reconociendo aquellos que son deficientes en algún tipo de aminoácido esencial y prefiriendo los de mayor calidad posible, y aquellos con mayor contenido de proteína (Louveaux, 1958; Schmidt y Johnson, 1984; Ghosh *et al.*, 2020; Fewel y Winston, 1992). Esto hará que la colmena sea más fuerte, más productiva y menos susceptible a enfermedades (Kleinschmidt y Kondos, 1978; Di Pasquale, 2016).

El estudio de las fuentes polínicas se apoya en la clasificación de los granos de polen colectados (origen botánico), la cual es posible debido a que los granos de cada especie presentan diversas ornamentaciones y aperturas, utilizadas por la taxonomía para clasificar e identificar grupos vegetales. El girasol posee la superficie del polen (llamada esporodermis o exina) equinada, como se observa en la Figura 5, esto facilita su adherencia al cuerpo de los insectos, y, en consecuencia, su transporte (Schneiter, 1997). Además, se pueden observar tres aperturas características de esta especie.

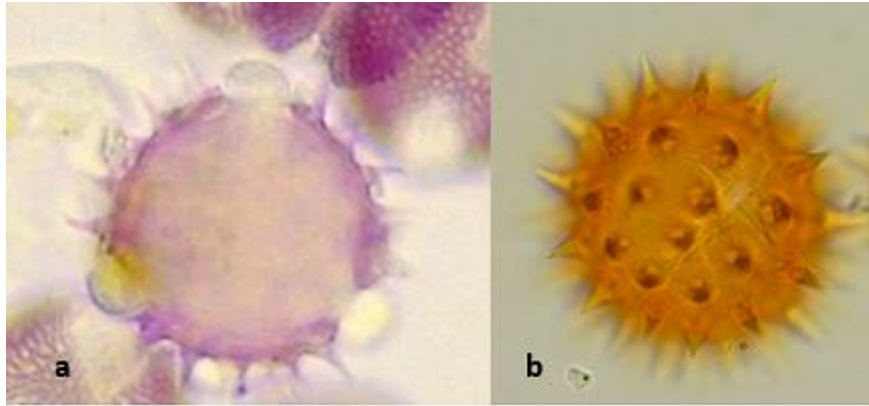


Figura 5 - Grano de polen de *Helianthus annuus* (girasol) con su exina equinada, observado en microscopio óptico a partir de la técnica de Wodehouse (a) y acetólisis (b).

El mecanismo de recolección de polen de la abeja se basa en retirar la recompensa de la flor y humedecerla con néctar o miel formando una masa llamada *carga corbicular*, que luego transporta en su tercer par de patas especializado para esta función (Roulston y Cane, 2000; Thorp, 2000). Una vez en la colmena, este polen es almacenado en las celdas y acondicionado para su conservación. Para esto la abeja lo mezcla con miel y enzimas de la saliva y lo compacta de manera que no quede aire en la celda para que se lleve a cabo una fermentación anaeróbica y ácido-láctica por microorganismos benéficos. Este proceso de acidificación permite la conservación del polen en la colmena por largos períodos de tiempo.

El polen del girasol ha sido mencionado por muchos autores como un polen poco atractivo para los polinizadores por sus características nutricionales (Schmidt *et al.*, 1995; Pernal y Currie, 2000; Somerville y Nicol, 2006; Tasei y Aupinel, 2008; Nicholson y Human, 2013) lo que puede influir en el pecoreo de la abeja y en el traslado que ésta hace del mismo en lotes de producción de semilla. Algunos autores sugieren que las abejas que sólo obtienen polen de girasol, pueden sufrir estrés nutricional dando como resultado una reducida supervivencia (Schmidt *et al.*, 1995), mientras que la recolección de polen de diferentes especies asegura una dieta variada más satisfactoria para el desarrollo de la colmena (Louveaux, 1968).

El estudio de esta recompensa es muy importante para analizar las preferencias de *A. mellifera* en su recolección, y evaluar la atractividad que el cultivo de girasol posee con

respecto a la flora acompañante y sus potenciales efectos en la polinización (Grandinetti, 2022).

Señales visuales

Las recompensas secundarias son señales y estímulos, ya sean visuales, olfativos y/o táctiles, cuya finalidad es atraer a los polinizadores. La atractividad que tengan estas recompensas está relacionada con la percepción sensorial, habilidad para aprender y experiencia de los polinizadores visitantes (Dafni, 1992). Dentro de la gran variedad de insectos que actúan como polinizadores, existen distintas preferencias y percepciones a estas señales; esto está asociado a sus características individuales y poblacionales (Tepedino y Parker, 1982; DeGrandi-Hoffman y Watkins, 2000; Mallinger y Prasifka, 2017).

La inflorescencia del girasol plantea un escenario complejo a la hora de estudiar el efecto que presentan en la atractividad las distintas estructuras que la componen. En este contexto, las flores exteriores tienen una función netamente visual mientras que las del disco contienen las recompensas primarias, es decir, el néctar y el polen. Varios autores demostraron el efecto de las flores liguladas en la atractividad de especies dentro de la familia Asteráceas (Stuessy *et al.*, 1986; Anderson 1991; Anderson 1996; Celedón-Neghme 2007; Nielsen *et al.* 2002; Cerca *et al.*, 2019). Sin embargo, son escasos los estudios en girasol (Cerrutti y Pontet, 2016), más aún en líneas parentales donde la gran diversidad de materiales utilizados y el hecho de que no se seleccione en los programas de mejoramiento sobre este tipo de característica, aumenta el desconocimiento respecto a la variabilidad de formas y colores de las flores liguladas y su influencia en la atractividad (Grandinetti, 2022). Al respecto, se ha estudiado que las flores liguladas absorben luz en el rango ultravioleta y reflejan en patrones diferentes entre genotipos, lo que podría darles una atractividad diferencial (Schneiter, 1997). Respecto a esto, Sammataro *et al.* (1986) expusieron la existencia de patrones de absorción y reflexión de la luz UV distintos en la región interna y externa de la lígula que se deberían a una diferencia en la morfología de las papilas desarrolladas en este tipo de corola (la zona de absorción UV estaría en el área de papilas cónicas y estriadas mientras que en la zona de reflexión UV las papilas serían globulares). Esto es de gran importancia debido a que las abejas son particularmente sensibles a las longitudes de onda en el rango UV (pueden

ver en un rango de 300 nm a 600 nanómetros), lo que les ayuda a detectar patrones en las flores que son invisibles para el ojo humano (von Frisch, 1967).

Objetivo general

El objetivo de este trabajo fue evaluar las recompensas florales primarias y secundarias de dos líneas parentales de girasol en una producción de semilla híbrida en la localidad de Villalonga, partido de Patagones.

Objetivos particulares

Caracterizar la secreción de néctar en dos líneas parentales de girasol.

- Estudiar la producción polínica de flores de la línea parental androfértil en distintos sectores del capítulo (Sector Externo: R5.2, Sector Medio: R5.5 y Sector Interno: R5.8).
- Estudiar el pan del polen almacenado en las colmenas para analizar las preferencias de *A. mellifera* en lotes de producción de semilla híbrida de girasol en presencia de flora melífera acompañante.
- Caracterizar las recompensas secundarias que ofrecen las líneas parentales estudiadas.
- Registrar la flora lindante al cultivo de girasol para evaluar su participación como flora acompañante o competitiva.
- Estudiar las visitas de *A. mellifera* en este sistema de producción.

Materiales y métodos

Ubicación del sitio de estudio y material vegetal

Los estudios fueron llevados a cabo el 14 de febrero del año 2023 en el establecimiento “El Ombú”, (39°53'7.96"S 62°29'54.63"O) (Figura 6) en un lote de 21,5 hectáreas, que tenía fecha de floración estimada para ese mismo día. Dicho establecimiento se dedica a la producción de semilla híbrida de girasol bajo riego por gravedad, que realiza por contrato con empresas semilleras. Los materiales utilizados fueron dos líneas parentales Clearfield que se denominarán como macho (M) en referencia a la línea androfértil y hembra (H) a la línea androestéril.

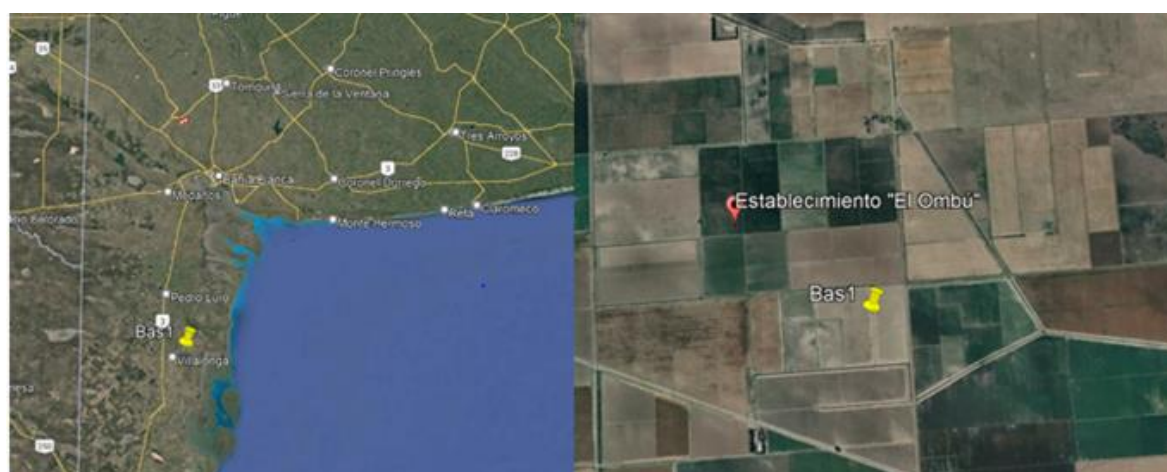


Figura 6 - Ubicación del sitio de muestreo en el Establecimiento "El Ombú" utilizando Google Earth.

Caracterización edafoclimática

En el sudoeste de la provincia de Buenos Aires el clima es templado, siendo los veranos e inviernos bien marcados, y las primaveras y otoños moderados (Zapperi, 2007). El mes más caluroso para el partido de Patagones es enero, con un promedio de temperatura máxima de 28 °C y temperaturas extremas de más de 40 °C, mientras que el mes más frío es julio con un promedio de temperatura mínima de 5 °C.

El régimen pluviométrico presenta máximos en primavera y otoño, y mínimos en invierno (Zapperi, 2007). Los meses donde se registran las mayores precipitaciones corresponden a febrero y marzo. Teniendo en cuenta que el partido de Patagones se encuentra comprendido entre las isohietas de los 450 y 360 mm, y que las

precipitaciones medias de la región disminuyen de Este a Oeste, el área de estudio es típicamente árida de manera progresiva hacia la Patagonia (Gabella, 2014). Los vientos predominantes son del noroeste y, en segundo lugar, del este (Campo, 2012), contribuyendo al desecamiento del suelo y al estrés hídrico de los cultivos.

Los suelos de la región comprendida entre el Río Colorado y el Río Negro varían entre los de orden Aridisoles, Entisoles y Molisoles (Gabella, 2014), particularmente el sitio de estudio se ubica entre estos últimos. Aunque los suelos del tipo Molisoles son considerados fértiles y de buena estructura, se encuentran limitados por las condiciones climáticas, principalmente por el déficit hídrico anual y los vientos erosivos (Gabella, 2014). Por este motivo, las producciones agrícolas de esta zona se planifican en base a un sistema de riego, siendo el riego por gravedad el más utilizado. La Corporación de Fomento de Río Colorado (CORFO) es el organismo que se encarga de distribuir las aguas del Río Colorado a través de un sistema de canales, para que se abastezcan las necesidades hídricas de los cultivos.

El Valle Bonaerense del río Colorado (VBRC), es una zona preferida por las empresas semilleras de híbridos y forrajeras, debido a la alta heliofanía durante los meses de producción, sus condiciones climáticas secas con bajas precipitaciones que favorecen la sanidad de los cultivos, y la disponibilidad de riego para cubrir las demandas hídricas. Además, es sencillo encontrar lotes donde se cumpla con los aislamientos requeridos por el Instituto Nacional de Semilla (INASE) para evitar la contaminación de polen y perjudicar así la calidad genética de la semilla producida (Schmidt, 2022).

Parámetros evaluados

1. Estudio de la secreción del néctar

Se utilizaron 11 capítulos macho y 10 capítulos hembra en estadio R5.5, que fueron seleccionados al azar y cubiertos con cofias a primera hora de la mañana (Figura 7), para evitar que las visitas por insectos alteren las mediciones. Las muestras se tomaron a las 9:00 horas en ambos parentales simultáneamente. Luego, cada parámetro fue analizado con el programa Excel utilizando el análisis estadístico *t-Student*, para comparar las variables entre macho y hembra. Los parámetros medidos dentro de esta recompensa floral se detallan a continuación.



Figura 7 - Capítulos de girasol cubiertos con cofias.

1.1 Porcentaje de flores secretoras

En cada capítulo, anteriormente cubierto con una cofia, se seleccionaron 20 flores al azar. Para medir el volumen de néctar secretado en cada capítulo, se utilizó un microcapilar de 1 μ l con el que se muestrearon las 20 flores (Figura 8). Una vez muestreado el capítulo, se guardaba inmediatamente el microcapilar en un Tubo Eppendorf rotulado “H” o “M”, para reducir al máximo la evaporación.



Figura 8 - (a) Muestreo de néctar en una flor tubulosa de girasol. (b) microcapilares de 1 μ l .

A través del registro del ascenso del néctar en el microcapilar se generó la variable “porcentaje de flores secretoras” (PFS, %), definida como el número de flores (dentro de las 20 muestreadas) en las que se pudo coleccionar néctar al introducir el microcapilar.

1.2 Néctar total secretado

Se midió con un calibre digital la altura de la columna de néctar por capilar (mm), para luego calcular el volumen de néctar total secretado (μ l). Sabiendo que el microcapilar mide 32 mm y tiene un volumen de 1 μ l, se calculó a qué volumen equivaldría cada altura.

1.3 Azúcar total y concentración del néctar

El azúcar total se calculó utilizando una pipeta Hamilton y un refractómetro manual. El procedimiento consistió en agregar 10 μ l de agua al néctar de cada microcapilar para generar mayor volumen, luego con ayuda de la pipeta, se colocó la solución en el refractómetro para medir el contenido de azúcar de cada muestra. El refractómetro muestra el resultado en °Brix, una unidad utilizada para medir la cantidad de sólidos (en este caso el azúcar) disueltos en un líquido. Finalmente, se realizó la conversión para expresar esta variable en miligramos.

Para calcular la concentración del néctar secretado, se dividió la cantidad de azúcar (mg) por el néctar total (μ l) y se multiplicó por 100.

1.4 Néctar por flor y azúcar por flor

Para calcular el néctar por flor, se dividió el néctar total de cada capilar por las flores secretoras.

Para calcular el azúcar por flor, se dividió el azúcar total por la cantidad de flores secretoras.

2. Estudio del polen

2.1 Granos de polen por flor

Para estudiar la cantidad de granos de polen por flor y su variabilidad según la ubicación de las flores en tres sectores del capítulo (sector externo: SE, sector medio: SM y sector interno: SI) se seleccionaron cinco capítulos androfértiles en cada uno de los siguientes estadios florales: R5.2, R5.5 y R5.8 (Figura 9). De cada capítulo se sustrajeron tres flores cerradas de la hilera contigua a las abiertas ese día; es decir, la línea que abriría al día siguiente (por lo cual tenían la corola aún cerrada). El total de 15 flores se conservó dentro de tubos Eppendorf con ácido acético glacial rotulados en heladera.

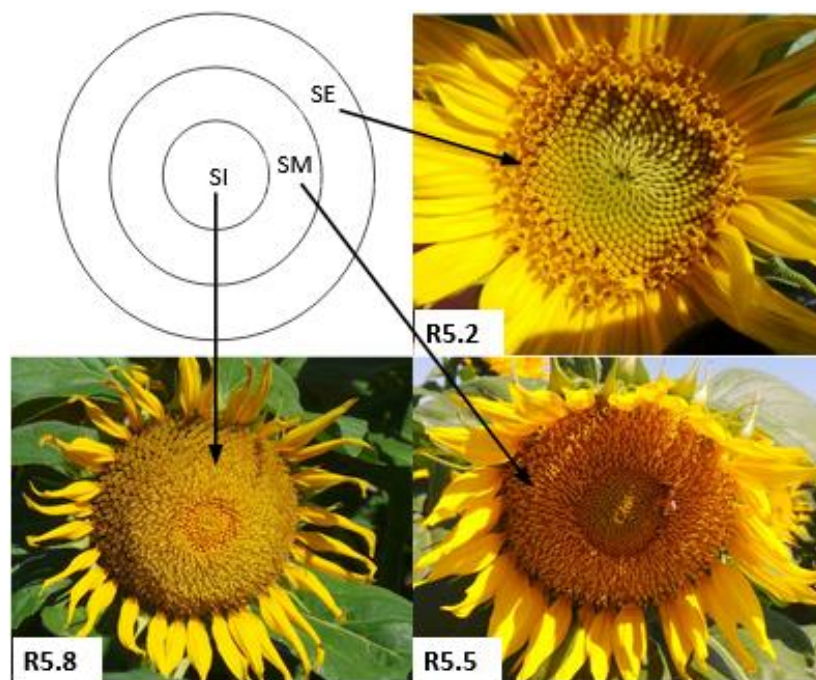


Figura 9 - Correspondencia entre los sectores del capítulo y los estadios florales en los que fueron cortados para conteo del número de granos de polen por flor. R5.2 corresponde al SE, R5.5 corresponde al SM y R5.8 al SI.

La metodología de trabajo en el laboratorio consistió en tomar una flor cerrada, ponerla dentro de un tubo graduado de vidrio y rotulado, y triturlarla suavemente con varilla de vidrio para extraer los granos de polen (Figura 10). Luego, se agregaron 0,2 ml de solución agua-glicerina en proporción 1:1, a la vez que se enjuagaba con esta misma solución la varilla dentro del tubo, para que ningún grano quedara en ella.



Figura 10 - a) Materiales de laboratorio utilizados para el conteo de granos de polen por flor, b) Tubo de ensayo graduado con flor triturada y solución agua-glicerina.

Se agitó la suspensión en vórtex por cinco minutos para desprender todos los granos y homogeneizar, y luego por dos minutos más antes de tomar cada alícuota. Se preparó la cámara de Neubauer, que permitió contar el número de granos de polen de la muestra y referenciarlo a un volumen conocido de manera de estimar el número de granos de polen por flor (Dafni *et al.*, 2005; Tourn *et al.*, 2010). De esta manera, se tomaron tres alícuotas por cada flor, se colocaron en las dos hemicámaras que tiene la Cámara de Neubauer, se observó en el microscopio óptico cada hemicámara y se contaron los granos de polen que se encontraban en el cuadrado delimitado por la misma (Figura 11). Al repetir el procedimiento, se lavaba la cámara, el tubo de ensayo, la pipeta y la varilla de vidrio con abundante agua, para evitar sobreestimar el número de granos de polen.

El análisis estadístico consistió en un modelo generalizado mixto con distribución Gamma, donde el sector del capítulo correspondió al factor fijo y los capítulos y las flores a factores aleatorios, incluyendo a las flores anidadas dentro de los capítulos.

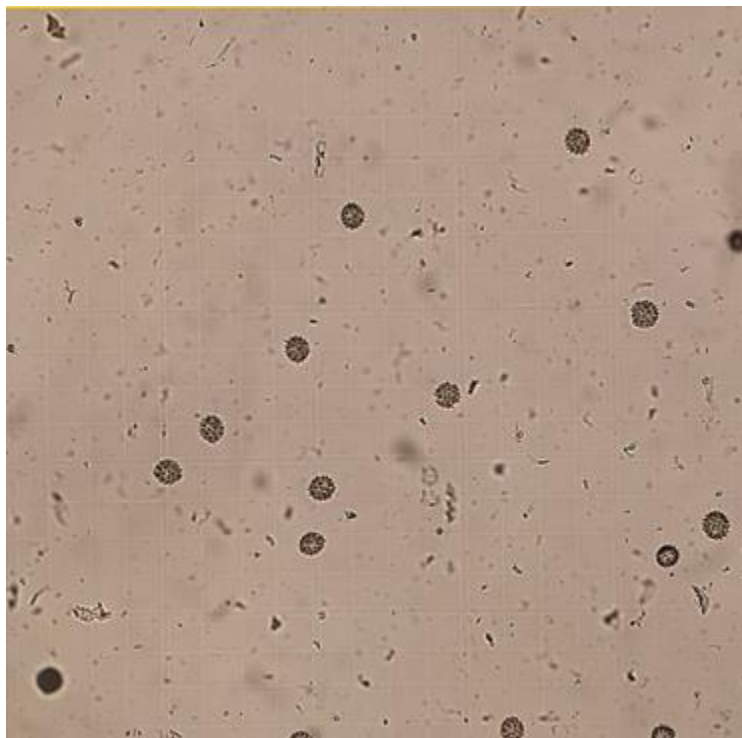


Figura 11 - Cámara de Neubauer observada en microscopio óptico con granos de polen de girasol.

2.2 Identificación del origen botánico de los granos de polen

Con el objeto de coleccionar cargas corbiculares, se colocaron trampas caza-polen de piquera desde la mañana hasta las 15:00 horas (-3 GMT). Al revisar las trampas para retirarlas, se notó que las abejas no habían recolectado suficiente polen, por lo que se optó por analizar el pan de polen o pan de abeja de las colmenas.

Se tomaron cinco muestras de pan de polen por colmena, en tres colmenas. Para la determinación de su origen botánico, las muestras fueron procesadas según los métodos de Erdtman (1960) y Wodehouse (1935) y observadas al microscopio óptico. La identificación botánica se realizó utilizando la Palinoteca de Referencia del LabEA-UNS y PalDat. Una vez identificadas, fueron contabilizadas para calcular la frecuencia de aparición (%) de cada tipo polínico en cada muestra.

El pan de polen se colocó en un tubo de vidrio graduado, se agregó agua destilada hasta los 3 ml y se agitó en vórtex. Finalmente se centrifugó por 15 minutos a 3000 rpm (Figura 12, a), se eliminó el sobrenadante y se conservó el residuo polínico del fondo del tubo.

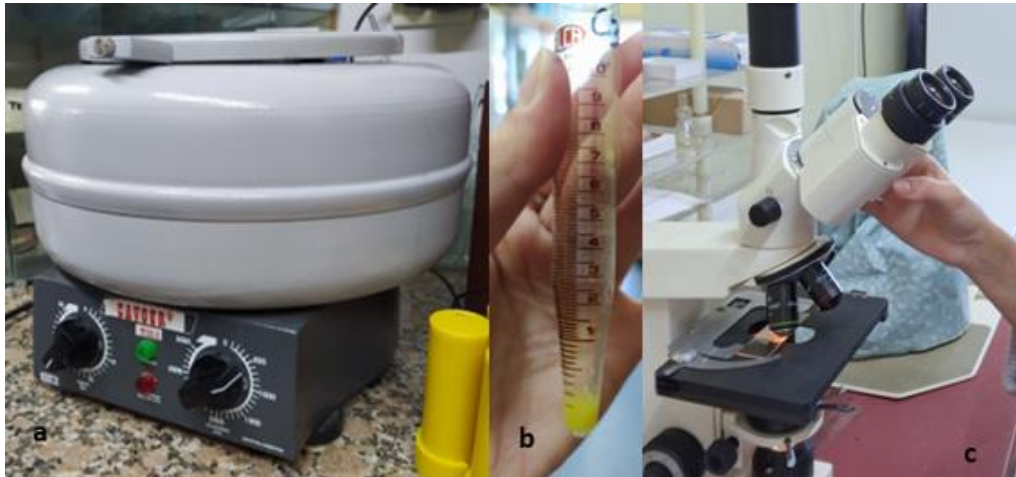


Figura 12 - (a) Centrifugadora; (b) Tubo graduado con suspensión de pan de polen y agua destilada; (c) Microscopio óptico con preparado.

A continuación, se agregó agua destilada hasta los 0,2 ml (Figura 12, b) y se pasó por vórtex una vez más hasta homogeneizar. Con una pipeta, se tomó una alícuota, y se colocó una gota de suspensión en un portaobjetos, luego se secó ligeramente en estufa eléctrica y se tiñó con una gota de fucsina. Se montó en un preparado semipermanente con gelatina y estos preparados fueron observados con microscopio óptico (Figura 12, c).

3. Morfometría del capítulo de girasol

Para analizar, comparar y describir la morfometría del capítulo de girasol de ambas líneas, se tomaron cinco capítulos hembra y cinco macho, todos en estadio R5.8. Se utilizó el programa KLONK Image Measurement para tomar las medidas.

Se tomaron cinco flores liguladas de cada capítulo, se pegaron en una hoja blanca y se escanearon. Luego, estas imágenes fueron subidas al programa para medir perímetro, área, ancho y largo de las flores. Además, se tomaron medidas manualmente del diámetro de capítulo, tanto longitudinal como transversal, y se contó el número total de flores liguladas.

4. Estudio de la vegetación

Se observó la flora acompañante que bordeaba el lote de girasol. Se anotó cada especie en floración, con el objetivo de clasificar por familia aquellas más frecuentes. Luego, se evaluó si las especies que se observaron en cercanías del cultivo coincidían con las encontradas en el pan de polen, con el objetivo de interpretar las preferencias de *A. mellifera* con los recursos florales presentes. Se realizó una tabla indicando Familia, Especie, recompensa ofrecida y en qué colmenas había aparecido el polen de cada especie.

5. Visitas de polinizadores

Se estudiaron las visitas de polinizadores durante la mañana, entre las 9:50 y las 10:20 horas (-3 GMT), en tres oportunidades durante 15 minutos. Esto se realizó en cinco capítulos diferentes para cada línea parental. Se evaluaron los resultados utilizando el estadístico *t-Student*.

Resultados y discusión

1. Estudio y caracterización del néctar

1.1 Flores secretoras

El porcentaje de flores secretoras en la línea H presentó un promedio de 31,5% ($\pm 15,1$) y en el M de 24,5% ($\pm 9,07$), no encontrándose diferencias significativas entre los parentales estudiados ($p > 0,05$).

Varios autores indican que no todas las flores del capítulo secretan néctar, o al menos no en forma simultánea (Sammataro *et al.*, 1984; Torretta, 2007; Grandinetti, 2022). Teniendo en cuenta que la producción de néctar es un gasto energético muy grande para la planta y que el girasol posee mucha cantidad de flores abiertas en simultáneo, es esperable que no todas sean secretoras y que este porcentaje sea bajo. Por otra parte, algunos autores sostienen que la variabilidad en la secreción podría ser una estrategia para manipular a los polinizadores y lograr que realicen la polinización con un menor gasto energético por parte de la planta (Gilbert, 1991; Biernaskie *et al.*, 2002; Kessler *et al.*, 2012).

1.2 Néctar total secretado

El análisis estadístico realizado no encontró diferencias significativas entre el néctar secretado por M y H, con un promedio de 0,24 ($\pm 0,07$) y 0,2 μl ($\pm 0,1$) respectivamente. Algunos autores afirman que no hay diferencias en el néctar secretado entre parentales de distinto sexo, sino entre genotipos dentro de la especie *H. annuus* (Tepedino y Parker, 1982; Vear *et al.*, 1990; Mallinger y Prazifka, 2017; Grandinetti 2022).

1.3 Azúcar total y concentración del néctar

El azúcar total arrojó una media de 0,12 mg tanto para el parental M como para el H; es decir que este parámetro no tuvo diferencias entre medias, con un desvío de $\pm 0,05$ y $\pm 0,08$ mg respectivamente.

La concentración del néctar secretado arrojó como resultado medias del 50% ($\pm 10,79\%$) en el caso del M y 57,1% ($\pm 19,48\%$) para el caso de la H, muy similares a los obtenidos por Grandinetti (2022). Estos valores se encuentran dentro del rango útil mencionado

por otros autores, quienes expusieron que, para que el balance energético del pecoreo de la abeja sea favorable, la concentración del néctar se debería ubicar entre el 50-55%, con un mínimo de 15% y un máximo de 85% (Ion *et al.*, 2007). También se debe tener en cuenta que algunos factores ambientales, como la temperatura, la humedad, la luz solar o el viento, pueden producir cambios en la concentración de azúcares del néctar.

En la Figura 13 se puede observar entre las líneas parentales evaluadas una tendencia opuesta entre el néctar total secretado y la concentración del mismo. En tal sentido, en el M, donde el néctar total fue mayor, la concentración resultó menor y, por el contrario, en la H se ve que el néctar total fue menor, pero la concentración del mismo fue más alta respecto al otro material vegetal. Esta relación entre la concentración y la cantidad de néctar total secretado también fue observada por otros autores (Ion *et al.*, 2008; Grandinetti, 2022).

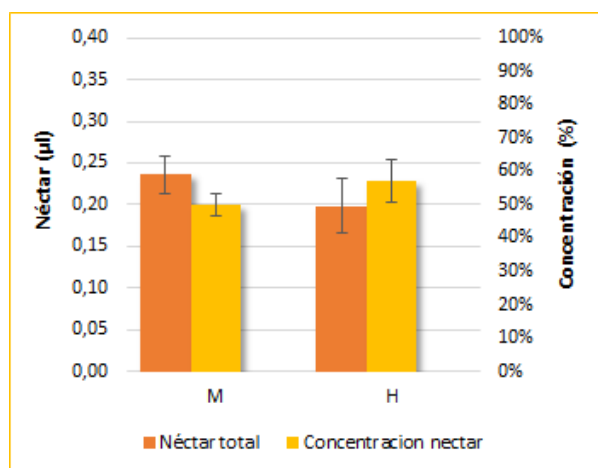


Figura 13 - Comparación de Néctar total secretado y Concentración del néctar en parental macho (M) y hembra (H).

1.4 Néctar por flor y azúcar por flor

El análisis arrojó que, en el parámetro néctar por flor, hay diferencias significativas entre medias (M: 0,05 µl, H: 0,03 µl; $p < 0,05$), con mayor cantidad de néctar por flor en el parental masculino (Figura 14). Esto podría atribuirse al menor número de flores por capítulo del parental M, lo que permite una mayor recompensa en néctar por flor y menos gasto energético para la planta en comparación con el parental H. Aunque se encuentran dentro de los mínimos, los valores observados concuerdan con los citados

por otros autores, a (Tepedino y Parker, 1982; Segarra, 2020). A su vez, los resultados son concordantes con los obtenidos por Grandinetti (2022).

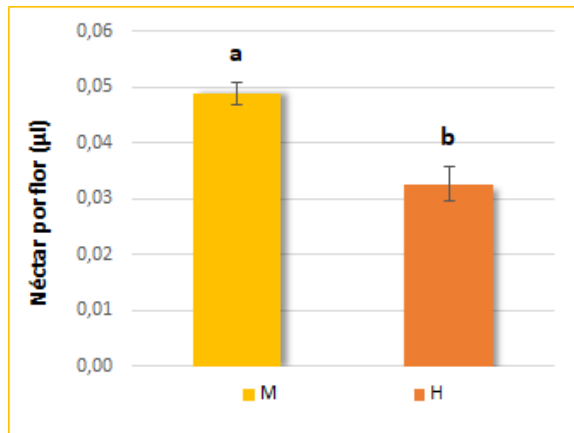


Figura 14 - Néctar por flor en parental macho (M) y hembra (H). Las letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p < 0,05$).

Por otra parte, el parámetro azúcar por flor no mostró diferencias significativas entre las medias ($p > 0,05$), siendo de 0,025 mg ($\pm 0,008$) en el caso del M y de 0,019 mg ($\pm 0,01$) en el caso de la H.

2. Estudio del polen

2.1 Granos de polen por flor (GPF)

El promedio de GPF encontrado fue de alrededor de 26.000 granos, observándose mucha variabilidad, con mínimos de 2.000 y máximos de 66.000 granos de polen. Estos valores son altos comparados con los encontrados por algunos autores como Grandinetti (2022) y Bonjour *et al.*, (2013), pero se corresponden con los encontrados por Vear *et al.* (1990), que mencionan un promedio entre 25.000 y 40.000.

Se observó una diferencia significativa del SI respecto los otros sectores mencionados (SI: 22.644, SM: 30.571, SE: 26.200; $p < 0,05$). Como se observa en la Figura 15, el SI tuvo menos cantidad de granos de polen por flor que los otros dos.

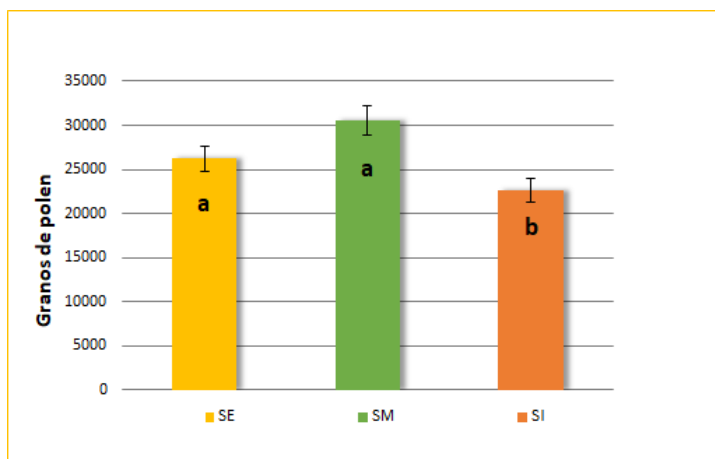


Figura 15 - Granos de polen por flor (GPF) en los tres sectores del capítulo del parental masculino. SE: sector externo, SM: sector medio, SI: sector interno del capítulo. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p < 0,05$).

Con respecto a la variación de los granos de polen por flor entre los sectores del capítulo, Grandinetti (2022) observó que en las líneas androfértiles de sus estudios, el promedio de GPF presentó una tendencia centrípeta creciente en los capítulos; es decir, que la cantidad de GPF fue significativamente superior en el sector interno de los mismos, lo cual difiere de lo encontrado en este estudio. Sin embargo, los resultados del presente estudio coinciden con los de Caramuti (2000) que observó que el sector central presentó diferencias con el sector periférico y medio, teniendo un menor número de GPF, mientras que no se encontraron diferencias entre estos dos últimos sectores, que tuvieron un mayor número de GPF. La variabilidad en la producción de granos de polen por flor entre sectores se debe a un factor genético (Caramuti, 2000; Grandinetti 2022; Vear, 1990).

2.2 Origen botánico del pan de polen

En el pan de polen de la colmena 1 se observaron ocho especies y/o familias diferentes. El tipo polínico principal correspondió a la familia Brassicáceas, representando casi un 79%, mientras que en segundo lugar (19%) se encuentra el tipo polínico *Centaurea* sp. (“abrepuño”). Finalmente se observó que el resto de las especies tuvieron menos de 1% de representación en el total contabilizado.

En el pan de polen de la colmena 2 se observaron seis especies y/o familias diferentes. El tipo polínico dominante fue Brassicáceas con un 96,6% del total, seguido de *Centaurea*

sp. con un 1,5% y la especie *Convolvulus arvensis* (“correhuela”) con un 1,2%. El resto de las especies se encuentran en proporciones menores al 1%.

En el pan de polen de la colmena 3 se observaron siete especies y/o familias diferentes, siendo el tipo polínico Brasicáceas el predominante con un 99%. El resto de las especies contabilizadas, como “correhuela”, “portulaca” o “girasol” se encontraron en proporciones consideradas trazas (< 1%).

La colmena 1 fue la que presentó una mayor variedad de especies siendo la única en la que el tipo polínico Brasicáceas se encontró en una frecuencia menor al 90%. En las tres colmenas se observó la dominancia del tipo polínico Brasicáceas. Dado que esta es una familia botánica estenopalínica, es decir, los granos de polen de las especies de este grupo son muy similares entre sí, resulta muy difícil afirmar qué especie o especies fueron las encontradas en este estudio del pan de polen. Teniendo en cuenta el censo de vegetación circundante se podría afirmar que los granos de polen observados corresponden a las especies *Diploaxis tenuifolia* (flor amarilla) y *Raphanus sativus* (nabón), esta última en menor abundancia. *Centaurea* sp., por su parte, tuvo una gran participación en la colmena 1, pero en las otras dos disminuyó considerablemente su representatividad. La colmena 2 tuvo un menor número de especies, mientras que la colmena 3 tuvo la menor variabilidad en cuanto a representatividad, ya que Brasicáceas representó un 99% del total. Tal como ha sido mencionado por otros autores, estos resultados reafirman la importancia de considerar la variabilidad que existe entre colmenas en los estudios de origen botánico.

La conducta de pecoreo de las abejas puede verse modificada durante las estaciones del año e incluso a lo largo del día en función de los cambios en las condiciones climáticas y la disponibilidad del polen (Andrada y Tellería, 2005). De esta manera, en colmenas de un mismo apiario puede ingresar polen de diferentes especies ya que las colonias difieren en su conducta de pecoreo aún frente a una misma oferta floral (Andrada *et al.* 2004). Es esperable incluso mayor variabilidad entre colmenas en este estudio que en los estudios de polen corbicular, ya que este último es colectado en un momento determinado (lapso de tiempo en que se ponen las trampas de polen) y en el caso del pan de polen, al momento de colectar la muestra de una celda se desconoce el momento exacto en que ingresó esa fuente polínica a la colmena.

Al observar las clases de frecuencias de aparición (Louveaux *et al.*, 1978) de las especies en las tres colmenas estudiadas (Figura 16), se puede concluir que el tipo polínico *Brasicáceas* es el predominante (>45%), *Centaurea sp.* es polen de menor importancia (3-15%) y el resto de las especies, entre ellas el girasol, son consideradas *traza* por representar < 0.1% del total.

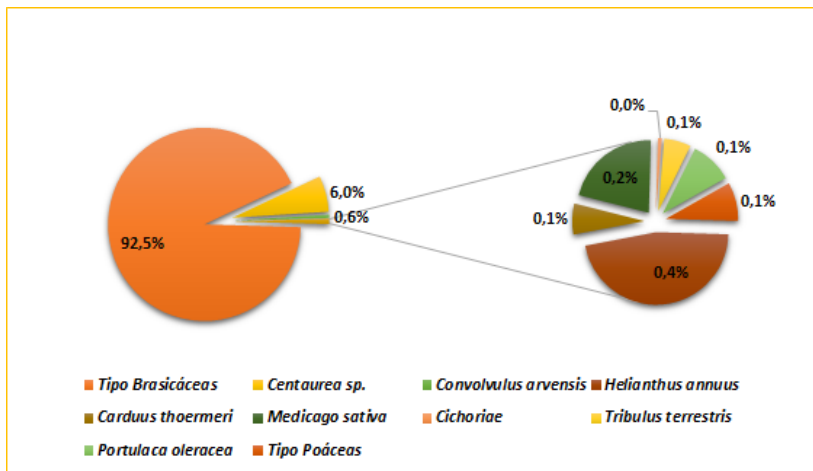


Figura 16 -Frecuencia de aparición de los tipos polínicos contabilizados en las tres colmenas estudiadas.

3. Morfometría del capítulo de girasol

El diámetro de capítulo fue mayor en el material androestéril que en el androfértil (Figura 17) con medias de 11,4 y 10,65 cm respectivamente. Este resultado coincide con lo obtenido por Grandinetti (2022), a pesar de que los materiales genéticos estudiados no eran coincidentes.

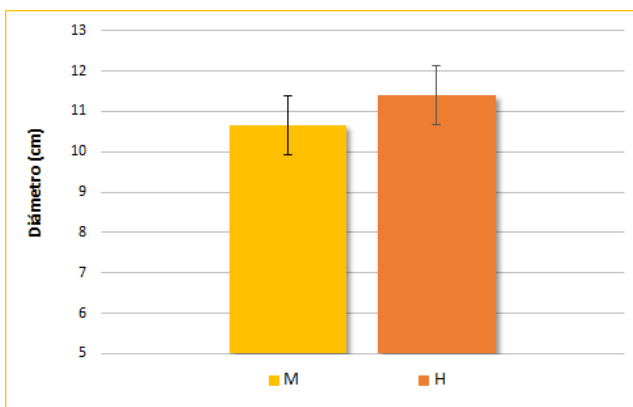


Figura 17 - Comparación del diámetro de los capítulos entre macho (M) y hembra (H).

Teniendo en cuenta esto, resulta lógico que el número de flores liguladas también sea mayor en el parental H en comparación con el M, resultados que también concuerdan con los estudios mencionados anteriormente. En promedio, el parental H tuvo 50 flores liguladas, mientras que el parental M tuvo 42.

Al comparar los otros parámetros morfométricos, se observó lo mismo. El parental H posee flores liguladas de mayor tamaño, asociado a una mayor longitud, ancho y área promedio del pétalo que el M (Figura 18). El parámetro que menos variabilidad tuvo fue el ancho, siendo de 1,8 cm para la H y 1,4 cm para el M.

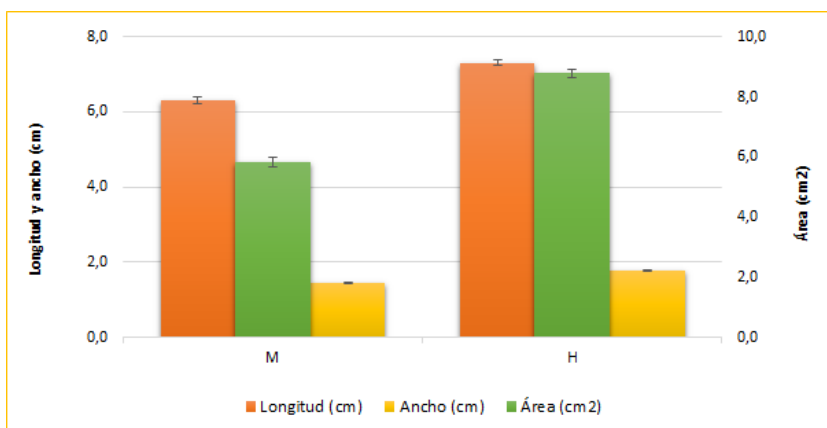


Figura 18 - Longitud, ancho y área de las flores liguladas entre macho (M) y hembra (H).

Al respecto, Martin y Farina (2016) plantearon que las diferencias de aspecto entre líneas androfértiles y androestériles resultarían en un escaso movimiento de las abejas entre estos parentales, lo cual, es perjudicial para que ocurra una fecundación eficiente. Estos autores observaron que, en lotes de producción de semilla de girasol, donde las líneas presentaban menos diferencias morfológicas (altura de la planta y diámetro del capítulo), se daban mayores tasas de entrecruzamiento. Además, plantearon que el tamaño del capítulo, que en las hembras llegaba casi a duplicar al de los machos, aumentaba sustancialmente el tiempo de pecoreo resultando en una menor tasa de visitas con respecto a los materiales masculinos.

4. Estudio de la vegetación

La Tabla 1 presenta las especies en floración censadas en el lote de producción de semilla híbrida de girasol donde se realizaron los muestreos.

Tabla 1 - Especies identificadas durante el censo de vegetación circundante al lote de estudio.
P: Flora polinífera, N: nectarífera, C: colmena.

Familia	Nombre científico	P-N	C 1	C 2	C 3
Asteráceas	<i>Carduus thoermeri</i>	P-N			
	<i>Helianthus annuus</i>	P-N	X	X	X
	<i>Xanthium spinosum</i>	P-N			
	<i>Baccharis sp.</i>	P-N			
	<i>Centaurea solstitialis</i>	P-N	X	X	X
	<i>Cichoriae</i>	P-N			
Apiáceas	<i>Ammi conium</i>	P-N			
Brasicáceas	<i>Raphanus sativus</i>	P-N	X	X	X
	<i>Diplotaxis tenuifolia</i>	P-N	X	X	X
Convolvuláceas	<i>Convolvulus arvensis</i>	P-N		X	X
Cucurbitáceas	<i>Ecballium elaterium</i>	P-N			
Malváceas	<i>Sphaeralcea australis</i>	P-N			
Myrtáceas	<i>Eucalyptus sp.</i>	P-N			
Poáceas	<i>Zea mays</i>	P			
Portulacáceas	<i>Portulaca oleracea</i>	P-N		X	X
Solanáceas	<i>Lycium chilense</i>	P-N			
	<i>Solanum elaeagnifolium</i>	P-N			
Tamaricáceas	<i>Tamarix gallica</i>	P-N			
Zigofiláceas	<i>Tribulus terrestris</i>	P-N		X	X

Todas las especies censadas, a excepción del maíz que solo es polinífera, ofrecen recompensas tanto de polen como de néctar, por lo tanto, se las considera flora melífera competitiva. Sin embargo, de las diecinueve especies identificadas, solo siete fueron encontradas en el pan de polen analizado, es decir que solo un 37% de la vegetación presente fue recolectada por *A. mellifera*. Esto concuerda con lo observado por Torretta (2007), que concluyó que no todas las especies de malezas entomófilas florecidas en el momento de floración del girasol interactuaron con visitantes florales.

Las especies que aparecieron en el pan de polen de las tres colmenas fueron *Helianthus annuus*, *Centaurea solstitialis*, *Raphanus sativus* y *Diplotaxis tenuifolia* (estas últimas dos

conforman el tipo polínico Brasicáceas). Mientras que *Convolvulus arvensis*, *Portulaca oleracea* y *Tribulus terrestris* aparecieron solamente en las colmenas 2 y 3 (Figura 19).



Figura 19 - Flora melífera circundante al lote de producción de girasol. (a) *Diplotaxis tenuifolia* y *Carduus* sp. (b) *Raphanus sativus* (c) *Convolvulus arvensis* (d) *Portulaca oleracea*.

La abeja melífera, un polinizador cosmopolita y generalmente muy eficiente, no manifiesta una preferencia marcada por el girasol, por lo cual abandona el cultivo cuando otras fuentes de polen y néctar están disponibles (Visscher & Seeley 1982, Camazine & Sneyd 1991, Seeley & Towne 1992; Torretta, 2007). Andrada *et al.* (2004) mencionan que las abejas melíferas de colmenas colocadas en lotes de girasol para producción de semillas híbridas en el Valle Inferior del río Colorado, forrajean intensamente por polen en flores de la vegetación del borde del cultivo. Estos autores argumentan que una posible explicación para ello sea el bajo contenido de proteína que tienen los granos de polen del girasol, aspecto ya mencionado en la introducción. Sin embargo, un equilibrio controlado de los bordes de cultivo permitiría un mejor estado general de las colmenas para sostener la sanidad y el desarrollo de la cría, potenciando el trabajo de las pecoreadoras sin generar un nivel de interferencia en detrimento de la producción del cultivo de girasol (Grandinetti, 2022). La vegetación de los bordes de cultivo podría considerarse, en estos casos, como flora acompañante del cultivo.

La aparición de tipos polínicos no registrados en el censo de vegetación, como por ejemplo *Medicago sativa* y *Cichoriae* sp., demuestran que la abeja destina energía para explorar y pecorear otras áreas en función de la selectividad de las fuentes alimenticias que utiliza. Un buen flujo de néctar o polen de otras especies puede resultar mucho más atractivo para las abejas que el cultivo de girasol, aun cuando está en plena floración (Crane, 1990). Un nivel nutricional adecuado de la colonia asegura un correcto desarrollo de la misma e influye sobre el pecoreo y movimiento de las abejas por el lote de producción. Es necesario un equilibrio para que estos polinizadores no destinen demasiado tiempo pecoreando flora ajena al lote de producción, pero que logren un desarrollo adecuado de la colmena para realizar sus tareas con normalidad (Grandinetti, 2022).

5. Visitas de polinizadores

En la línea parental femenina se contaron cinco abejas en total, correspondientes a *A. mellifera*, durante las tres observaciones. Mientras que en la línea parental masculina se contaron en total diecinueve abejas melíferas, una abeja del género *Melissodes* sp. (Figura 20) y un díptero.



Figura 20 - Polinizadores observados sobre el girasol. (a) *Apis mellifera*, (b) *Melissodes* sp.

Si bien no se hallaron diferencias estadísticas ($p=0,14$), se observó que sobre el parental macho no sólo hubo un mayor número de insectos pecoreando, sino una mayor

variabilidad de especies que en la hembra. Esto puede deberse a que, como ya fue visto en los resultados, el macho de este genotipo secreta mayor cantidad de néctar por flor que la hembra. Otra posibilidad, es que la línea androfértil tuviera más visitas debido a que ofrece polen además de néctar. Sin embargo, para Grandinetti (2022), el aporte de polen como recompensa alimenticia no sería un factor que defina la atractividad de las líneas para el caso de *A. mellifera*, ya que no observó una diferencia notable de las visitas entre los parentales. En otras especies de abejas nativas, se han observado otros comportamientos respecto a la respuesta a la atractividad, según las recompensas ofrecidas. Torretta (2007) demostró que las abejas del género *Melissodes* sp. forrajean principalmente por polen, por lo cual no visitan capítulos androestériles.

Conclusiones

Si bien no se encontraron diferencias significativas en los parámetros del néctar que fueron estudiados, el parental M presentó mayor secreción de néctar que el H, ya que, para el mismo %PFS, las flores del M presentaron mayor secreción.

Al analizar los granos de polen por flor en los sectores del capítulo, se observó que el sector interno contenía la menor cantidad de GPF. Sería recomendable ampliar los estudios sobre la variabilidad de los GPF en los capítulos de girasol, para determinar si las diferencias son ocasionadas por factores genéticos o ambientales, o si la distribución es al azar.

Respecto al origen botánico del pan de polen de las tres colmenas, se encontró una limitada variedad de especies vegetales. Esto sugiere una selectividad notable de *A. mellifera* sobre los recursos florales, estimulada por su preferencia por pólenes de diversas especies vegetales que optimizan la ingesta de nutrientes esenciales para la cría. Sería interesante estudiar a futuro si estos análisis con pan de polen llegan a reflejar con la misma precisión que las trampas de polen la flora que las abejas visitan para coleccionar esa recompensa.

El registro y estudio de la vegetación junto con el pan de polen permite entender las preferencias de las abejas, evidenciando su disposición a buscar recursos incluso a distancias considerables. Además, la baja calidad nutricional del polen del girasol plantea la necesidad de reconsiderar el concepto de flora competitiva y acompañante en relación a las especies en floración cercanas, sugiriendo que un equilibrio controlado de esta vegetación puede favorecer la sanidad y desarrollo de las colmenas sin interferir negativamente en el cultivo. Por lo tanto, algunas especies consideradas competitivas, en realidad deberían ser consideradas acompañantes.

Los estudios sobre recompensas secundarias revelaron diferencias morfológicas entre los parentales. Esto podría ser contraproducente para la polinización de semilla híbrida si genera una atractividad muy desigual entre uno y otro parental. Un mayor diámetro de capítulo también puede disminuir la eficiencia de polinización, ya que aumenta el tiempo que las abejas requieren para explorarlo.

Al observar las visitas de polinizadores, se evidenció que el M tuvo una tasa de visitas superior en cantidad y diversidad de especies. El menor tamaño de capítulo del M puede haber inferido en la mayor tasa de visitas que este recibió, aunque también puede ser un factor relevante la disponibilidad de ambas recompensas florales en este parental (polen y néctar). Evaluar las visitas que reciben las líneas parentales es importante ya que en un sistema eficiente la tasa de aproximación de los polinizadores debería ser similar en ambas. No obstante, es necesario repetir este estudio, ya que las condiciones climáticas del día de muestreo no permitieron el respaldo estadístico de estos resultados.

Es fundamental entender la relación entre la biología floral del girasol y la actividad de los polinizadores, especialmente de *A. mellifera*. Este conocimiento es clave para realizar un manejo más eficiente y sostenible del sistema productivo, favoreciendo las interacciones biológicas que sustentan este ecosistema.

Bibliografía

- Aguirrezábal, L. A. N., Orioli, G. A., Hernández, L. F., Pereyra, V. R., Miravé, J. P. (1996). *Girasol: aspectos fisiológicos que determinan el rendimiento*. INTA Unidad Integrada Balcarce. <https://www.profertil.com.ar/wp-content/uploads/2020/08/girasol.pdf>
- Andersson, S. (1991). *Floral display and pollination success in Achillea ptarmica (Asteraceae)*. *Ecography*, 14(3), 186-191. DOI: 10.1111/j.1600-0587.1991.tb00651.x
- Andersson, S. (1996). *Floral display and pollination success in Senecio jacobaea (Asteraceae): interactive effects of head and corymb size*. *American Journal of Botany*, 83(1), 71-75. DOI: 10.1002/j.1537-2197.1996.tb13876.x
- Andrada, A., A. Valle, P. Paolini & L. Gallez (2004). *Pollen and nectar sources used by honeybee colonies pollinating sunflower (Helianthus annuus) in the Colorado river valley, Argentina*. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 39: 75-82.
- Andrada, A. C., & Tellería, M. C. (2005). *Pollen collected by honey bees (Apis mellifera L.) from south of Caldén district (Argentina): botanical origin and protein content*. *Grana*, 44(2), 115-122.
- Asociación Argentina del Girasol (s.f.). *El girasol en la Argentina*. <https://www.asagir.org.ar/acerca-de-historia-456>
- Baker, H.G. y Baker, I. (1983). *Chemistry of floral nectar*. Columbia University Press: New York. 126-152
- Bernardello, G. (2007). *A systematic survey of floral nectaries*. In *Nectaries and nectar*. Springer, Dordrecht. 19-128. DOI: 10.1007/978-1-4020-5937-7_2
- Biernaskie, J.M., Cartar, R.V., y Hurly, T.A. (2002). *Risk-averse inflorescence departure in hummingbirds and bumble bees: could plants benefit from variable nectar volumes?*. *Oikos*, 98(1), 98-104. DOI: 10.1034/j.1600-0706.2002.980110.x
- Bonjour L., Grandinetti G., Tourn E., Pellegrini C., Armaza A. y Andrada A. (2013). *Recompensas florales de dos genotipos androfértiles de girasol: estudio preliminar*. XXXIV Jornadas Argentinas de Botánica, Boletín SAB. 48, 100
- Campo, A. M., Rosell, P., Benedetti, G. y Gil, V. (2012). *Geografía física del suroeste bonaerense*. IX Jornadas Nacionales de Geografía Física, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. <https://redargentinadegeografiafisica.wordpress.com/wp-content/uploads/2014/04/bahc3ada-blanca-2012-guia-de-viaje-de-campo-so-prov-buenos-aires.pdf>
- Camazine, S. and Sneyd, J. (1991). *A model of collective nectar source selection by honey bees: Self-organization through simple rules*. DOI:10.1016/S0022-5193(05)80098-0

- Caramuti, V.E., Naab, O.A., Caccavari, M.A. y Hernandez, L.F. (2000). *Distribución de la producción y viabilidad del polen en el capítulo de girasol (Helianthus annuus L.)*. *Semiárida*, 10(2), 78. <https://www.isasunflower.org/fileadmin/documents/aaProceedings/15thISCToulouse2000/PosterWorkshopE-F-H/EAR9.pdf>
- Cerrutti, N. y Pontet, C. (2016). *Differential attractiveness of sunflower cultivars to the honeybee Apis mellifera L.* *OCL*, 23(2), 204. DOI: 10.1051/ocl/2016005
- Celedón-Neghme, C., Gonzáles, W. L. y Gianoli, E. (2007). *Cost and benefits of attractive floral traits in the annual species Madia sativa (Asteraceae)*. *Evolutionary Ecology*, 21(2), 247-257. DOI: 10.1007/s10682-006-9002-6
- Cerca, J., Agudo, A. B., Castro, S., Afonso, A., Alvarez, I. y Torices, R. (2019). *Fitness benefits and costs of floral advertising traits: insights from rayed and rayless phenotypes of Anacyclus (Asteraceae)*. *American Journal of Botany*, 106(2), 231-243. DOI: 10.1002/ajb2.1238
- Crane, E. (1990). *Bees and beekeeping: science, practice and world resources*. Heinemann Newnes.
- Dafni, A. 1992. *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford University Press.
- Dafni, A., Kevan, P.G., and Husband, B.C. (2005). *Practical pollination biology*. Cambridge, Ontario: Enviroquest. 590pp.
- DeGrandi-Hoffman, G. y Watkins, J.C. (2000). *The foraging activity of honey bees Apis mellifera and non—Apis bees on hybrid sunflowers (Helianthus annuus) and its influence on cross—pollination and seed set*. *Journal of Apicultural Research*, 39(1-2), 37-45. DOI: 10.1080/00218839.2000.11101019
- Di Pasquale, G., Alaux, C., Le Conte, Y., Odoux, J. F., Pioz, M., Vaissière, B.E., Belzunces, L.P. y Decourtye, A. (2016). *Variations in the availability of pollen resources affect honey bee health*. *PloS one*, 11(9), e0162818. DOI: 10.1371/journal.pone.0162818
- Erdtman, G. (1960). *The acetolysis method, a revised description*. *Svensk Botanisk Tidskrift*. 54: 561-564.
- Fewell, J.H. y Winston, M.L. (1992). *Colony state and regulation of pollen foraging in the honey bee, Apis mellifera L.* *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 30(6), 387-393. DOI: 10.1007/BF00176173
- Freeman, C. E., Reid, W. H., Becvar, J. E. and Worthington, R. D. (1985). *Some floral nectar-sugar compositions of species from Southeastern Arizona and Southwestern New Mexico*. *Madroño* 32: 78-86.
- Freeman, C. E., Reid, W. H. and Jackson, M. S. (1991). *Floral nectar sugar compositions of some South and Southeast Asian species*. *Biotropica* 23: 568-574.

Gabella, J. I., (noviembre del 2014). *Gestión territorial y degradación ambiental en áreas rurales de la diagonal árida templada argentina, partido de Patagones, provincia de Buenos Aires*. DOI: 10.13140/RG.2.1.4211.1765

Gallez, L., Andrada, A., Valle, A., Paoloni, P. y Hernández, L. (2000). *Flora competitiva en la polinización de girasol para producción de semilla híbrida, por Apis mellifera L., en el sur de la Provincia de Buenos Aires, Argentina*. 15e Conférence Internationale Tournesol, 12-15 junio 2000 en Toulouse, Francia, Actes H 1-6. <https://www.isasunflower.org/fileadmin/documents/aaProceedings/15thISCToulouse2000/PosterWorkshopE-F-H/H-GallezAR17.pdf>

Garayalde, A. F., Presotto, A., Álvarez, D., Rodríguez, R. y Cantamutto, M. A. (2008). *Avances en la caracterización de plantas androestériles de girasol silvestre de Argentina*. Sociedad Argentina de Genética, 37º Congreso Argentino de genética. https://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.php?keywords=&id=05458&inst=yes&congresos=yes&detalles=yes&congr_id=587451

Ghosh, S., Jeon, H. y Jung, C. (2020). *Foraging behaviour and preference of pollen sources by honey bee (Apis mellifera) relative to protein contents*. Journal of Ecology and Environment, 44(1), 1-7. DOI: 10.1186/s41610-020-0149-9

Gilbert, F.S., Haines, N., y Dickson, K. (1991). *Empty Flowers*. Functional Ecology, 5(1), 29–39. DOI: 10.2307/2389553

Gottsberger, G., Schrawen, J., y Linskens, H. F. (marzo de 1984). *Amino acids and sugars in nectar, and their putative evolutionary significance*. Plant Syst. Vol. 145, p. 55-77.

Grandinetti, G. (2022). *Incidencia de las recompensas florales en la producción de semilla híbrida de girasol*. Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca.

Griebel, C., y Hess, G. (1940). *The vitamin C content of flower nectar of certain Labiatae*. Zeit Untersuch Lebensmitt, 79, 168-171.

Guitián P., Navarro L., Guitián J. (1995). *Efecto de la extracción en la producción de néctar en flores de Melittis melisophyllum L. (Labiatae)*. Anales del Jardín Botánico de Madrid, 52, 163–169.

Gurini, L. (21 de mayo de 2020). En la Argentina, el 74% de los cultivos dependen de la polinización. *Ministerio de Economía, Agricultura, Ganadería y Pesca*. <https://www.argentina.gob.ar/noticias/en-la-argentina-el-74-de-los-cultivos-dependen-de-los-polinizadores>

Harder, L.D., y Cruzan, M.B. (1990). *An evaluation of the physiological and evolutionary influences of inflorescence size and flower depth on nectar production*. Functional Ecology, 559-572. DOI: 10.2307/2389323

Heinrich, B. (1979). *Bumblebee economics* Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts.

Heyneman, A.J. (1983). *Optimal sugar concentrations of floral nectars—dependence on sugar intake efficiency and foraging costs*. *Oecologia*, 60(2), 198-213. DOI: 10.1007/BF00379522

Ion, V., Ion, N., Stefan, V., Fota, G. y Coman, R. (2008). *Influence of the climatic factors on the melliferous characteristics of the sunflower hybrids*. Scientific Conference: Durable agriculture in the context of environmental changes. Iași University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture. 51.

Ion, N., Stefan, V., Ion, V., Fota, V. y Coman, R. (2007). *Results concerning the melliferous characteristics of the sunflower hybrids cultivated in Romania*. *Scient. Papers An. Sci. Biotech.* 40(2), 80-90. <https://www.usab-tm.ro/fileadmin/fzb/volum%202007/volumul%202/Apiicultura/IonN2.pdf>

Jackson, S., y Nicolson, S.W. (2002). *Xylose as a nectar sugar: from biochemistry to ecology*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 131(4), 613-620. DOI: 10.1016/S1096-4959(02)00028-3

Kessler, D., Bhattacharya, S., Diezel, C., Rothe, E., Gase, K., Schöttner, M., y Baldwin, I. T. (2012). *Unpredictability of nectar nicotine promotes outcrossing by hummingbirds in *Nicotiana attenuata**. *The Plant Journal*, 71(4), 529-538. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2012.05008.x

Kinman, M.L. (1970). *New developments in the USDA and state experiment station sunflower breeding programs*. En *Proceedings of the 4th International Sunflower Conference* (pp. 181-183). Paris: International Sunflower Association.

Kleinschmidt, G.J. y Kondos, A.C. (1978). *Effect of dietary protein on colony performance*. *Australasian beekeeper*. 80, 251-257.

Kram, B.W., Bainbridge, E.A., Perera, M.A.D.N., y Carter, C. (2008). *Identification, cloning and characterization of a GDSL lipase secreted into the nectar of *Jacaranda mimosifolia**. *Plant Molecular Biology*, 68(1), 173-183. DOI: 10.1007/s11103-008-9361-1

Leclercq, P. (1969). *Une sterilité cytoplasmique chez le tournesol*. *Ann. Amel. Plantes*, 19, 99-106.

Louveaux, J. (1958). *Recherches sur la récolte du pollen par les abeilles (*Apis mellifera* L.)*. En *Annales de l'Abeille*. EDP Sciences.1(4), 197-221.

Louveaux, J. (1968). *Étude expérimentale de la récolte du pollen*. *Traité de biologie de l'abeille*, Masson et Cie, Paris, 3, 174-203.

López C., Szemruch C., Gallo C., Murcia M., Esquivel M., Aranguren M., García F., Medina J., Rondanini D. (2018). *Estandarización nacional del método de conductividad eléctrica para analizar el vigor de semillas en girasol*. Instituto de Investigación sobre Producción Agropecuaria, Ambiente y Salud, I Encuentro de Centros Propios y Asociados de la Comisión de Investigaciones Científicas, Mar del Plata, Argentina.

https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/159895/CONICET_Digital_Nro.e6f90f5c-483e-4818-8791-50eb6da414cf_B.pdf?sequence=5&isAllowed=y

López Pereira, M., Rondanini, D.P., Trápani, N. (2006). Girasol. Facultad de Agronomía, Buenos Aires, p. 143-179. https://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.php?keywords=&id=02662&inst=yes&capitulos=yes&detalles=yes&capit_id=170214

Mallinger, R.E. y Prasifka, J.R. (2017). *Bee visitation rates to cultivated sunflowers increase with the amount and accessibility of nectar sugars*. Journal of Applied Entomology, 141(7), 561-573. DOI: 10.1111/jen.12375

Martin, C.S. y Farina, W.M. (2016). *Honeybee floral constancy and pollination efficiency in sunflower (Helianthus annuus) crops for hybrid seed production*. Apidologie, 47(2), 161-170. DOI: 10.1007/s13592-015-0384-8

Meteoblue. *Datos climáticos y meteorológicos históricos simulados para Villalonga* (s.f.). Recuperado el 25 de septiembre del 2024 de: https://www.meteoblue.com/es/tiempo/historyclimate/climatemodelled/villalonga_argentina_3832702

Nepi, M., Soligo, C., Nocentini, D., Abate, M., Guarnieri, M., Cai, G., Bini, L., Puglia, M., Bianchi, L. y Pacini, E. (2012). *Amino acids and protein profile in floral nectar: much more than a simple reward*. Flora- Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 207(7), 475-481. DOI: 10.1016/j.flora.2012.06.002

Nicolson, S.W. y Human, H. (2013). *Chemical composition of the 'low quality' pollen of sunflower (Helianthus annuus, Asteraceae)*. Apidologie, 44(2), 144-152. DOI: 10.1007/s13592-012-0166-5

Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura (2022). FAOSTAT – Cultivos y productos de ganadería. Recuperado el 25 de septiembre del 2024. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>

Percival, M. S. (1961). *Types of nectar in Angiosperms*. New Phytol. 60: 235-281.

Pernal, S.F. y Currie, R.W. (2000). *Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (Apis mellifera L.)*. Apidologie, 31(3), 387-409. DOI: 10.1051/apido:2000130

Pham-Delegue, M.H., Etievant, P., Guichard, E., Marilleau, R., Douault, Ph., Chauffaille, J. y Masson, C. (noviembre de 1990). *Chemicals involved in honeybee-sunflower relationship*. J Chem Ecol 16, 3053–3065. <https://doi.org/10.1007/BF00979612>

Putt, E.D. (1940). *Observations on morphological characters and flowering processes in the sunflower (Helianthus annuus L.)*. Scientific Agriculture, 21(4), 167-179. DOI: 10.4141/sa-1940-0073

Richardson, L.L., Adler, L.S., Leonard, A.S., Andicoechea, J., Regan, K.H., Anthony, W.E., Manson, J. S y Irwin, R.E. (2015). *Secondary metabolites in floral nectar reduce parasite infections in bumblebees*. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 282(1803), 20142471. DOI: 10.1098/rspb.2014.2471

Rodríguez Zurro, T., y Bergero, P. (13 de enero del 2023). *Balance regional de girasol 2022-23 en Argentina*. Bolsa de Comercio de Rosario, Edición N° 2084. <https://www.bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal/balance-11>

Rollin, O., y Garibaldi, L.A. (2019). *Impacts of honeybee density on crop yield: A meta-analysis*. *Journal of Applied Ecology*, 56(5), 1152-1163. DOI: 10.1111/1365-2664.13355

Roulston, T.H., Cane, J.H. y Buchmann, S.L. (2000). *What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen–pistil interactions, or phylogeny?*. *Ecological monographs*, 70(4), 617-643. DOI: 10.1890/0012-9615(2000)070[0617:WGPCOP]2.0.CO;2

Sammataro D., Flottum P.K., y Erickson E.H. (1984). *Factors contributing to honey bee preferences in sunflower varieties*. *Proceedings Sunflower Research Workshop*. USA National Sunflower Association. 20– 21.

Schmehl, D. R., Teal, P. E., Frazier, J. L., & Grozinger, C. M. (2014). *Genomic analysis of the interaction between pesticide exposure and nutrition in honey bees (Apis mellifera)*. *Journal of insect physiology*, 71, 177-190.

Schmidt, L.S., Schmidt, J.O., Rao, H., Wang, W. y Xu, L. (1995). *Feeding preference and survival of young worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) fed rape, sesame, and sunflower pollen*. *Journal of Economic Entomology*, 88(6), 1591-1595. DOI: 10.1093/jee/88.6.1591

Schmidt, E. (diciembre del 2022). *Servicio de seguimiento del desempeño a campo de distintas líneas parentales experimentales de maíz y girasol en el área de riego del partido de Villarino*. Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur. <https://repositoriodigital.uns.edu.ar/bitstream/handle/123456789/6281/Schmidt%20Emelina.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Schmidt, J.O. y Johnson, B.E. (1984). *Pollen feeding preference of Apis mellifera, a polylectic bee [Honeybee nutrition]*. *Southwest Entomology*, USA. 9(1), 41–47.

Schneider, A. A., (Ed.) (1997). *Sunflower Technology and Production*. The American Society of Agronomy, No. 35, 1-19). Wisconsin. USA. <https://www.sunflowerusa.com/spanish/Historia-del-girasol/>

Schneider, A.A., y Miller, J.F. (1981). *Description of sunflower growth stages 1*. *Crop Science*, 21(6), 901- 903. DOI: 10.2135/cropsci1981.0011183X002100060024x

Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. (21 de septiembre del 2023). *Estimaciones agrícolas, informe mensual*. Ministerio de Economía, Argentina. https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/estimaciones/archivos/estimaciones/230000_2023/230900_Septiembre/230921_Informe%20Mensual%20al%2021-09-2023.pdf

Seeley, T. D., & Towne, W. F. (1992). *Tactics of dance choice in honey bees: do foragers compare dances?*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 30, 59-69.

Segarra, L. (2020). *Floral trait architecture in crop sunflower (Helianthus annuus L) under drought conditions*. (Master Thesis, Central Washington University).

- Simpson, B.B., y Neff, J.L. (1981). *Floral rewards: alternatives to pollen and nectar*. Annals of the Missouri botanical Garden, 301-322. DOI: 10.2307/2398800
- Somerville, D.C. y Nicol, H.I. (2006). *Crude protein and amino acid composition of honey bee-collected pollen pellets from south-east Australia and a note on laboratory disparity*. Australian Journal of Experimental Agriculture, 46(1), 141-149. DOI: 10.1071/EA03188
- Tasei, J.N. y Aupinel, P. (2008). *Nutritive value of 15 single pollens and pollen mixes tested on larvae produced by bumblebee workers (Bombus terrestris, Hymenoptera: Apidae)*. Apidologie, 39(4), 397- 409. DOI: 10.1051/apido:2008017
- Tepedino, V.J. y Parker, F.D. (1982). *Interspecific differences in the relative importance of pollen and nectar to bee species foraging on sunflowers*. Environmental Entomology, 11(1), 246-250. DOI: 10.1093/ee/11.1.246
- Torretta, J. P. (2007). *Entomofauna relacionada con la polinización del girasol (Helianthus annuus, L.) en Argentina*. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.
https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n4058_Torretta.pdf
- Tourn, E., Andrada, A., Gallez, L., Armaza, A. y Pellegrini C. (2010). *Número de granos de polen por flor en Diplotaxis tenuifolia L.: uso del hemocitómetro*. XIII Simpósio Brasileiro de Paleobotánica e Palinología. Salvador, Brasil. 114.
- Traut, J. (22 de Julio del 2022). *Fuimos, somos y tal vez seremos... girasoles argentinos*. Revista Aapresid Nº 207, p. 14. URL: https://issuu.com/aapresid/docs/revista_aapresid_207
- Van Handel, E., Haeger, J. S. y Hansel, C. W. (1972). *The sugars of some Florida nectars*. Am. J. Bot. 59: 1030-1032.
- Vear, F., Pham-Delegue, M.H., de Labrouhe, D.T., Marilleau, R., Loubliey, Y., y Le Métayer, M. (1990). *Genetical studies of nectar and pollen production in sunflower*. Agronomie, 10(3), 219-231. <https://hal.inrae.fr/hal-02713929/document>
- Visscher, P. K., & Seeley, T. D. (1982). *Foraging strategy of honeybee colonies in a temperate deciduous forest*. Ecology, 63(6), 1790-1801
- Wodehouse, R.P. (1935). Pollen Grains, New York.
- Zapperi, P. A., Ramos, M. B., Gil, V. y Campo, A. M. (agosto del 2007). *Caracterización de las precipitaciones estivales en el Suroeste bonaerense*. Sociedad Argentina de Estudios Geográficos; Contribuciones Científicas; 19; 483-491
https://ggfaweb.wordpress.com/wp-content/uploads/2018/12/2007_zapperi-ramos-et-al_precipitaciones-estivales_sw-bonaerense.pdf