

Estrategia de forrajeo de polen de la abeja nativa *Manuelia postica*
(Xylocopinae: Manuelliini) e implicancias en su potencial inversión parental
en reproducción

Tesis
entregada a la
Universidad de Chile
en cumplimiento parcial de los requisitos
para optar al grado de

Magíster en Ciencias Biológicas

Facultad de Ciencias

por

Katherine Andrea Collao Alvarado

Octubre, 2018

Director de Tesis Dr. Hermann Niemeyer M.

Co-director de tesis: Dr. Luis Flores Prado



FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION

TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magister en Ciencias Biológicas presentada por la candidata.

Katherine Collao Alvarado

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día.....

Director de Tesis:

Dr. Hermann Niemeyer M.

Co-Director de Tesis

Dr. Luis Flores Prado

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Claudio Veloso

Dr. Carezza Botto

" Dedicada al motorcito de mi vida, mi hija Violeta, y a mi amado compañero Demetrio "

Biografía



Nací en 1983, en la ciudad de San Antonio. Viví una infancia muy feliz rodeada por el cariño y amor de mis padres Silvia y Eduardo, y mis hermanas Jeanella y Constanza. Desde pequeña y sin vislumbrar en lo que podría convertirse mi gusto por los "bichos" y las plantas, los hice parte de mi vida y del cotidiano

de mis juegos.

Estudí Biología, en la P. Universidad Católica de Valparaíso. Allí conocí grandes amigos (hasta el día de hoy), disfruté de una ciudad maravillosa como es Valparaíso y por sobretodo tuve el placer de tener profesores que motivaron mi andar por la Ciencia. Fui ayudante de la cátedra de entomología y desde muy temprano en la carrera participé activamente en congresos.

En el año 2009 llegué al laboratorio de Química Ecológica a realizar mi tesis de pregrado. Allí conocí a Hermann, a Luis, a las "Manuelias" y al polen, mi actual herramienta de trabajo. Como tesis, estudié la Biología de nidificación de *Manuelia gayatina* y un acercamiento a su dieta. Desde ese momento hasta hoy, el polen ha sido el centro de mis trabajos, como una herramienta versátil y altamente confiable.

En el año 2013 ingresé a este Magister, y en agosto del año 2014 nació Violeta, una niña maravillosa, que ordenó mis prioridades, trajo mucha paz a mi vida y también un paréntesis en el camino del postgrado.

Hoy vivo en La Serena y trabajo en el Centro de Estudios avanzados en Zonas Áridas (CEAZA), en el laboratorio de Paleoecología, estudiando la vegetación y el clima del pasado a través del polen fósil.

Agradecimientos

Primero quiero agradecer a Demetrio, por su amor, apoyo y paciencia durante estos años de estudio. Por su compañía y ayuda en terreno y por las innumerables veces que pasamos fines de semana en el laboratorio.

A mi hija Violeta, porque a sus 3 años ha sido una gran compañera, desde el 1er mes de embarazo ya estaba conmigo en campo.

¡A mis padres por confiar y apoyarme ciegamente siempre!!, siempre!!. A mis hermanas, por su cariño y por ser parte de estos procesos “tesísticos”.

A mis tutores Hermann Niemeyer y Luis Flores, con quienes he tenido el gusto de trabajar y aprender, ¡desde mi pregrado!. Hermann, muchas gracias por tu paciencia, por tus prontas correcciones y por permitirme ser parte de tu equipo del Laboratorio de Química Ecológica. A Luis Flores por ser generoso con su conocimiento, por mostrarme el mundo de las “Manuelias”, y sobre todo por iniciarme en el mundo del polen!

A Antonio Maldonado por ayudarme a perfeccionar mi conocimiento sobre el polen y su tratamiento químico y a Víctor Pasten por la determinación botánica de muuuchas plantas.

Y finalmente a mis amigos: del postgrado Carlita Orellana y Laura Pérez por esas eternas tardes de estudio y por nunca rendirnos! Del laboratorio de Química Ecológica a la Caro, la Andre, Chío Lops, el Dani, Javito, Benítez y la Claudita! Mención honrosa a la Caro, nunca olvidaré la maratón de “Bradford”. Y del laboratorio de Paleoecología a Claudia, Jeremy, Ignacio, Euge, Antonio y especialmente a Pili y Marigen por su gran ayuda y soporte en los momentos críticos, gracias mis queridísimas.

A todos muchas gracias!

Índice de Contenidos

Dedicatoria	i
Resumen Biográfico	ii
Agradecimientos	iii
Índice de Contenidos	iv
Índice de Figuras	v
Índice de Anexos	vi
Resumen	ix
Abstract	x
Introducción	1
Material y Métodos	11
Resultados	22
Discusión	44
Conclusión	53
Bibliografía	45
Anexos	52

Índice de figuras

- Figura 1.** Secuencia de construcción y aprovisionamiento del nido en una abeja solitaria, ejemplificado en una especie que utiliza tallos o ramas secas como sustrato de nidificación (adaptado de Maeta, 1997) 2.
- Figura 2.** Ubicación del área de estudio (A,B) y las zonas de nidificación de *M. postica* en ella (C). 12.
- Figura 3.** Cuadrante de 100 x 100 m en torno al sitio de nidificación (punto central) y las trampas de polen (figuras) ubicadas a 2 m de la zona de nidificación. 15.
- Figura 4.** Trampa de polen modificada a partir de Gosling et al. (2002). 20.
- Figura 5.** Zonas de nidificación A, B y C. En su interior se muestran los puntos de muestreo de la vegetación y una escala para estimar la distancia entre los puntos. 24.
- Figura 6.** Porcentaje proteico de las familias botánicas mayormente representadas en las masas de alimento. 26
- Figura 7.** Especies principalmente representadas en las masas de alimento que pertenecen a familias cuyo polen muestra mayor concentración proteica (35 - 42%).Excepto *Azara serrata* (Flacourtiaceae: 28% proteína) 28

Figura. 8. A. Frecuencia relativa (%) de las especies representadas en la vegetación. **B.** Especies principalmente seleccionadas, en el polen de las masas de alimento, durante los tres periodos (T1, T2 y T3) de recolección de nidos. En paréntesis después del nombre de la especie, el porcentaje de proteína promedio por familia. 30

Fig. 9. A. Frecuencia relativa (%) de las especies representadas en la vegetación. **B.** Especies principalmente rechazadas, durante los tres periodos (T1, T2 y T3) de recolección de nidos. En paréntesis después del nombre de la especie, el porcentaje de proteína promedio por familia 32

ANEXOS

ANEXO 1: Tipos polínicos presentes en las masas de alimento construidas por *M. postica*. 68.

ANEXO 2:

Tabla 1. Ciclo de construcción y aprovisionamiento de nidos de *M. postica*.
Adaptado de Flores-Prado et al., (2008) 52.

Tabla 2. Especies vegetales presentes en las tres zonas de nidificación, su categoría de distribución y su período de floración. 53.

Tabla 3. Frecuencias relativas de individuos de las especies vegetales presentes en las zonas de nidificación (A, B y C) en los distintos períodos de observación. 56.

Tabla 4. Índice de diversidad de Shannon e índice de similitud de Jaccard. 57.

Tabla 5. Resumen de especies destacadas en las masas de alimento y su porcentaje de proteína promedio, para el período 22 de noviembre, zonas B y C. 58.

Tabla 6. Resumen de especies destacadas en las masas de alimento y su porcentaje de proteína promedio, para el período 8 de diciembre, zonas A, B y C. 59

Tabla 7. Resumen de especies destacadas en las masa de alimento y su porcentaje de proteína promedio, para el período 22 de diciembre, zonas A y B.

60.

Tabla 8. Resumen de la longitud de los nidos, el peso de las masas de alimento, la cantidad de granos promedio contado por masa y el porcentaje de proteína promedio por masa.

61.

Tabla 9. Selección del recurso sobre la base del Índice de Savage para el período 22 de Noviembre, zona B. D_i = disponibilidad del recurso, U_i = uso del recurso en la dieta. En negrita los resultados significativos tras la prueba de Chi cuadrado ($\chi^2 = 3,8415$; $p = 0,05$).

63.

Tabla 10. Selección del recurso sobre la base del Índice de Savage para el período 22 de Noviembre, zona C. U_i = uso del recurso en la dieta; D_i = disponibilidad del recurso. En negrita los resultados significativos tras la prueba de Chi cuadrado ($\chi^2 = 3,8415$; $p = 0,05$).

65.

Tabla 11. Selección del recurso sobre la base del Índice de Savage para el período 8 de Diciembre, zona A. U_i = uso del recurso en la dieta; D_i = disponibilidad del recurso. En negrita los resultados significativos tras Chi cuadrado ($\chi^2 = 3,8415$; $p = 0,05$).

66.

Tabla 12. Selección del recurso sobre la base del Índice de Savage para el período 8 de Diciembre, zona B. U_i = uso del recurso en la dieta; D_i = disponibilidad del recurso. En negrita los resultados significativos tras la prueba de Chi cuadrado ($\chi^2 = 3,8415$; $p = 0,05$).

66.

Tabla 13. Selección del recurso sobre la base del Índice de Savage para el período 8 de Diciembre, zona C. U_i = uso del recurso en la dieta; D_i = disponibilidad

del recurso. En negrita los resultados significativos tras la prueba de Chi cuadrado ($\chi^2 = 3,8415$; $p = 0,05$). 67.

Tabla 14. Selección del recurso sobre la base del Índice de Savage para el período 22 de Diciembre, zona A. En negrita los resultados significativos tras Chi cuadrado ($\chi^2 = 3,8415$; $p = 0,05$). 67.

Tabla 15. Selección del recurso sobre la base del Índice de Savage para el período 22 de Diciembre, zona B. En negrita los resultados significativos tras la prueba de Chi cuadrado ($\chi^2 = 3,8415$; $p = 0,05$). 68.

RESUMEN

Las abejas solitarias se caracterizan por ser altamente eficientes en la recolección y dispersión del polen. Cada hembra construye una masa de alimento con el polen y néctar forrajeados, entregándole a su descendencia, por única vez, las proteínas, sales minerales, grasas y carbohidratos, que ésta necesita para desarrollarse desde huevo hasta adulto. Dado lo relevante de la masa de alimento, exploramos en ella, la selectividad de la hembra para recolectar polen, cuantificamos sus proteínas y determinamos taxonómicamente su composición vegetal.

A nivel palinológico determinamos la presencia de al menos 18 especies vegetales, de las cuales 16 especies son nativas y 2 son introducidas. Todas pertenecientes a familias botánicas cuyo contenido proteico es alto (36-42%). A través del método de Bradford, cuantificamos su contenido proteico, el cual en promedio alcanzó el 36,6%. Comparamos las masas entre periodos (T1, T2 y T3) de colecta, lo que evidenció que no hay diferencias significativas entre los periodos estudiados (ANOVA: $F_{2,42} = 2,191$; $p = 0,124$), sin embargo, la cantidad promedio de granos de polen (2338 ± 1134), sí mostró diferencias significativas entre los periodos (Kruskal-Wallis: $H_{2,29} = 9,87$; $p = 0,007$).

Por otro lado, la selección del recurso se evaluó a través del índice de Savage, el que informó que las plantas mayormente seleccionadas durante las temporadas estudiadas, fueron las especies nativas *Adesmia* aff. *hirsuta*, *Azara serrata*, *Escallonia pulverulenta* y la especie introducida *Melilotus* sp. Todas se encontraron en baja frecuencia relativa en las zonas de estudio, sin embargo, pertenecen a familias botánicas con un alto contenido proteico, entre 28 y 42%.

La conclusión general de este trabajo es que el contenido de proteína en el polen afecta las actividades de forrajeo de las abejas: la construcción de la masa de alimento. Las hembras de *M. postica* seleccionan especies con granos de polen altamente proteicos, independientemente de su frecuencia en la vegetación, como es el caso de *Medicago* sp., especie que se encuentra ausente de las zonas cercanas de nidificación.

ABSTRACT

The solitary bees are very effective in the gathering and spreading of pollen grain. Each female builds “bee bread” with the gathered pollen and nectar, giving their offspring, for once, all the proteins, mineral salts, fats and carbohydrates that they need to develop to maturity. Due to the importance of the bee bread, we explored the female’s selectivity to gather pollen; we quantified their proteins and determined, at a palynological level, its vegetative conformation.

At a palynological level, we found 18 species, 16 of them were native and 2 were introduced. All of them belonged to botanical families with pollen high in protein content (36-42%). Through the Bradford assay, we quantified the protein content, which reached 36,6% on average. We compared the protein content of the bee bread between the three collecting periods (T1, T2 and T3) no significant difference was found (ANOVA: $F_{2,42} = 2.191$; $p = 0.124$) however, the average counts of pollen grains did show significant differences between periods (Kruskal-Wallis: $H_{2,29} = 9.87$; $p = 0.007$)

On the other hand, the resource selection was evaluated through the Savage selectivity index, which showed that the most selected floral species during those three seasons were the natives *Adesmia* aff. *hirsuta*, *Azara serrata* and *Escallonia pulverulenta* and the introduced *Melilotus* sp. All these species are found in a relative low frequency within the research areas, but they belong to botanical families with high protein content, between 28 and 42%.

The general conclusion of this work is that pollen protein content affects the bees' foraging activities: to make the bee bread. *M. postica* females select species with highly proteic pollen grains regardless of their frequency of occurrence or, as in the case of *Medicago* sp., their absence near the nesting grounds.

Introducción

Las abejas son los agentes biológicos polinizadores más importantes a nivel global debido a los beneficios ecológicos y económicos que proveen (Allen-Wardell et al., 1998; Klein et al., 2003). De aproximadamente 20.000 especies de abejas descritas, más del 85% son solitarias (Batra, 1984). Éstas se caracterizan por su alta eficiencia en la dispersión y depósito de polen sobre el estigma de las flores, en comparación con las abejas sociales o de miel (Freitas & Paxon, 1998; Klein et al., 2003).

En las especies solitarias, cada hembra construye su propio nido y provee a su descendencia de todo el alimento que esta necesita para desarrollarse desde huevo hasta adulto. La hembra aprovisiona cada celda de crianza con una masa de alimento que construye con el polen y néctar forrajeados, ovipone sobre ella un único huevo y sella la celda (Michener, 2007) (**Fig. 1**).

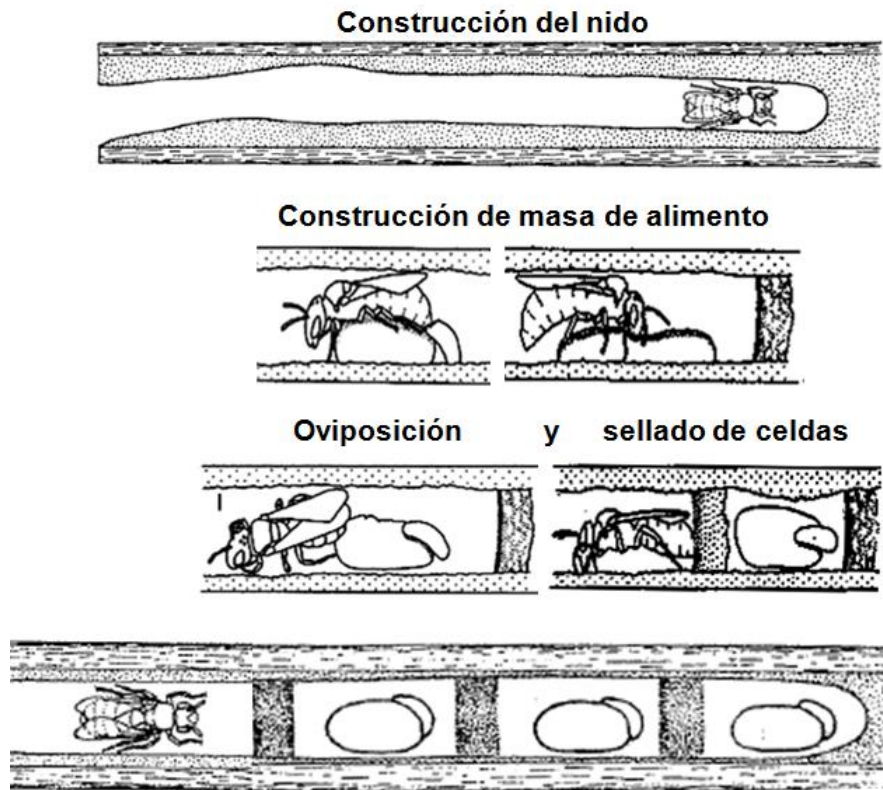


Fig.1. Secuencia de construcción y aprovisionamiento del nido en una abeja solitaria, ejemplificado en una especie que utiliza tallos o ramas secas como sustrato de nidificación (adaptado de Maeta, 1997).

Para construir la masa de alimento la hembra puede utilizar una estrategia de forrajeo generalista, la que consiste en recolectar recursos desde distintas familias vegetales (polilectia), o puede especializarse en la recolección de recursos desde especies que pertenecen a un mismo género o familia (oligolécia) (Michener, 2007). En este sentido, la estrategia de forrajeo se evidencia en las masas de alimento, debido a que el polen que las conforma posee características

morfológicas de diseño y ornamentación, que lo identifican directamente con la especie de planta que lo produce (Heusser, 1979) (**Anexo 1, Tipos polínicos**).

Por otro lado, el número de vuelos de forrajeo necesarios para construir una masa de alimento puede variar de dos a más de 40 entre las diferentes especies de abejas solitarias (Frohlich & Parker, 1983; Danforth, 1990; Giovanetti & Lasso, 2005). Estos vuelos impondrían altos costos a las hembras (Zurbuchen et al., 2010), especialmente cuando ellas deben volar grandes distancias en busca del recurso, como se ha observado en las abejas solitarias y especialistas de las especies *Hoplitis adunca* y *Chelostoma rapunculi* (Zurbuchen et al., 2010), y en las especies generalistas *Megachile rotundata* (Peterson & Roitberg, 2006) y *Osmia lignaria* (Williams & Kremen, 2007), afectando negativamente al número de su progenie. Cabe destacar que en general en las especies poliléticas, la distancia recorrida en busca del recurso tiende a ser menor que en las especies oligoléticas debido a que aquellas accederían a un espectro floral más amplio (Ramalho et al., 1989).

Químicamente, la masa de alimento está compuesta principalmente por néctar y polen. Del néctar, la progenie obtiene carbohidratos (sacarosa, fructosa y glucosa), aminoácidos y lípidos, que varían en porcentaje dependiendo de la planta y el lugar donde crece (Nicolson & Thornburg, 2007). Del polen, obtiene lípidos, sales minerales, fibra y proteína (Campos et al., 2008); esta última es considerada como referente del valor nutricional del polen (Pernal & Currie, 2000; Cook et al., 2003; Hanley et al., 2008; Vanderplanck et al., 2014) y puede variar

entre 2 y 60% del peso seco dependiendo de la especie vegetal (Roulston et al., 2000).

Las proteínas del polen se encuentran en el citoplasma del grano y en el *pollenkitt* o material adhesivo que rodea externamente al grano de polen. Son liberadas al tracto digestivo del insecto por diferentes mecanismos tales como shock osmótico, enzimas digestivas que rompen y penetran la pared del grano o por efecto mecánico de las mandíbulas del insecto (Dobson & Peng, 1997; Roulston & Cane, 2000).

El contenido proteico del polen y la eficiente asimilación del nitrógeno en las abejas (Wightman & Rogers, 1978) son cruciales para el crecimiento de la larva y para su sobrevivencia (Schmidt & Buchman, 1985; Roulston et al., 2000; Cook et al., 2003, Weiner et al., 2010) y, como consecuencia, para el desarrollo de individuos adultos de mayor talla corporal con ventajas en fecundidad y oportunidad de cópula (Roulston & Cane, 2002). Por ejemplo, larvas de la especie *Lasioglossum zephyrum* que fueron expuestas a dietas artificiales con igual cantidad de polen, pero de mayor contenido proteico, se convirtieron en adultos de mayor talla corporal (Roulston & Cane, 2002).

Los antecedentes expuestos muestran que el crecimiento y desempeño de las abejas es afectado por la calidad del polen en su dieta (Roulston & Cane, 2002); en consecuencia, la decisión de forrajeo de las abejas, al menos de aquellas que presentan polilectia, podría ser afectada por diferencias en el contenido proteico del polen (Keller et al., 2005). Varios trabajos han reportado la selección de polen en función de su contenido proteico. Ejemplos de ello son las especies generalistas *Bombus* sp. y *Apis mellifera* que para conformar sus masas

de alimento recolectan polen preferentemente de alto contenido proteico (Cook et al., 2003; Hanley et al., 2008). Esta capacidad de selección del polen en función de su contenido proteico, ha sido evidenciada incluso en abejas altamente especializadas que eligen entre variedades de una misma especie floral; tal es el caso de cinco especies de *Bombus sp.* en el Reino Unido, que fueron capaces de discriminar entre distintas variedades de la planta polimórfica *Mimulus guttatus* con polen de distintos contenidos proteicos (Robertson et al., 1999). Además, el análisis de las masas de alimento de la abeja generalista nativa de Chile, *Manuelia gayatina*, ha evidenciado la utilización preferente de familias polínicas con alto contenido proteico en dos localidades de nidificación diferentes, una costera de la Región de Valparaíso y otra precordillerana en la Región Metropolitana, antecedentes que sugieren fuertemente selectividad del recurso (Collao-Alvarado, 2012).

La selección de polen que pueden realizar las abejas hembras para aprovisionar a su progenie, basada en su calidad nutritiva o en la oferta del recurso, podría tener implicancias en su inversión parental en reproducción. De acuerdo con la Teoría de inversión parental (Trivers, 1972), las acciones que un progenitor realiza para aumentar las posibilidades de supervivencia y reproducción de su descendencia, también tienen costos en sus actividades reproductivas futuras. Consecuentemente, para maximizar el éxito reproductivo, el progenitor buscará un compromiso o "*trade-off*" entre los beneficios derivados del cuidado de las crías *versus* los costos para su reproducción futura (Carranza, 1994). Sin embargo, en especies de abejas semélparas (es decir, que tienen solo un evento

reproductivo en su vida), la inversión parental en reproducción no involucraría este tipo de compromisos.

En especies de artrópodos semálparos que no exhiben conductas de cuidado parental directo (en cuanto a un aprovisionamiento progresivo del alimento entre la madre y su descendencia), se ha documentado la existencia de un compromiso en cuanto al número y tamaño de la descendencia (Fox & Czesak, 2000). En *Manuelia postica*, una especie de abeja nativa, solitaria y semélpara, que no exhibe conductas de cuidado parental directo, se ha propuesto la existencia de un compromiso entre el número de descendientes de cada hembra y el tamaño corporal de éstos (Flores-Prado et al., 2008). En esta especie también se ha evidenciado que el costo de la inversión en el desarrollo de la descendencia lo asume completamente las hembras. Estas construyen sus nidos horadando tallos o ramas secas, y aprovisionan a su descendencia elaborando una masa de alimento (principalmente polen) en las celdas donde ésta se desarrolla (Flores-Prado et al., 2008). Lo anterior representa una inversión parental relevante en términos de reproducción, de modo que las hembras requieren nidificar en zonas con recursos alimenticios y hospederos de nidificación (principalmente tallos secos de *Chusquea quila*) adecuados (Ávalos et al., 2010). Adicionalmente, en abejas carpinteras, como lo es *M. postica*, se ha establecido que el número de celdas al interior del nido es un estimador de la fecundidad (Watmough, 1983). En *M. postica* se ha observado una correlación positiva entre la longitud del nido y el número de celdas en su interior (Flores-Prado & Niemeyer, 2012), y entre la longitud del nido y el número de individuos que se desarrolla en esas celdas

(Flores-Prado et al., 2014). Por consiguiente, la longitud del nido constituye un adecuado indicador de la inversión parental (maternal) en reproducción.

Por otro lado, las hembras de *M. postica* han sido propuestas como poliléticas en cuanto a la obtención de polen (Ávalos et al., 2010). Sin embargo, se desconoce el contenido nutricional de las masas de alimento que construye la hembra (cantidad y/o calidad proteica del polen) y la implicancia que éste podría tener en la progenie.

Planteamiento del problema

Las abejas poliléticas aprovisionan de alimento a su descendencia ya sea de manera selectiva, por ejemplo, forrajeando principalmente sobre aquellas especies vegetales que entreguen polen de mayor contenido proteico, o de manera no selectiva, es decir, obteniendo polen desde diferentes especies vegetales en proporciones similares a su oferta en los alrededores de los sitios de nidificación. Además, en el caso del forrajeo no selectivo, las abejas podrían preferir el recurso en virtud de su cercanía con el sitio de nidificación. Por otro lado, un aspecto relevante es la consecuencia de cualquiera de estas estrategias de forrajeo en la inversión parental en reproducción. En ese sentido, resulta interesante preguntarse si las hembras que son selectivas (que recolectan polen de mayor contenido proteico), construyen nidos de menor longitud en comparación con las hembras no selectivas, dado que estas últimas no están limitadas a encontrar especies florales que producen polen de mayor calidad proteica y, por consecuencia, invertirían más en reproducción, lo que se traduciría en nidos más largos con capacidad para albergar más descendientes.

Hipótesis 1.

Las hembras de *M. postica* construyen masas de polen seleccionando las fuentes de alimento de acuerdo a su calidad nutricional y no desde especies abundantes y/o cercanas a su sitio de nidificación. En consecuencia, se espera que el análisis palinológico de las masas de alimento construidas por las hembras, informe la presencia de especies vegetales que presenten polen con un alto porcentaje de contenido proteico, independiente de la cercanía a los nidos y/o abundancia de las especies vegetales.

Hipótesis 2.

En las hembras de *M. postica* parte de la inversión parental en reproducción, evaluada indirectamente por medio de la longitud del nido, está asociada con la composición de la masa de alimento en función de su calidad nutricional (contenido proteico).

Objetivo General

Determinar la estrategia de forrajeo de las hembras de *M. postica* y establecer los posibles efectos de ésta en la inversión parental en reproducción.

Objetivos específicos

Para responder a la hipótesis 1.

- I. Cuantificar (frecuencia relativa) e identificar taxonómicamente la vegetación presente en cada zona de nidificación y determinar, a través, de trampas de polen, la vegetación que estuvo disponible para las abejas entre los periodos de recolección de los nidos (T1, T2 y T3).

- II. Determinar y cuantificar las especies vegetales que conforman el polen de las masas de alimento.

- III. Determinar a través del método de Bradford (1976) la concentración de proteína presente en cada una de las masas de alimento.

- IV. Comparar a través del Índice de selección de recurso de Savage, el polen presente en las masas de alimento con la oferta del recurso floral disponible al momento de la colecta de los nidos.

Para responder a la hipótesis 2.

- V. Correlacionar la longitud de los nidos, como un proxy de parte de la inversión parental en reproducción, de las hembras de *M. postica*, con la calidad nutricional de las masas de alimento que construyen para su progenie, evaluadas según su cantidad de granos de polen y su contenido proteico.

Materiales y Métodos

1. Especie en estudio

La especie en estudio, *M. postica* (Xylocopinae: Manuelliini), se distribuye principalmente en Chile, entre las Regiones IV y X, con algunos registros en Argentina (Daly et al., 1987). Su conducta de nidificación es típica de especies carpinteras solitarias. Particularmente, la hembra de *M. postica* construye un único nido, el que según su ciclo biológico podría demorar entre 1 y 2 semanas en promedio (**Anexo 1, Tabla 1**) (Flores-Prado et al., 2008), excavando un túnel en internodos secos de *Chusquea quila* (Poaceae: Bambuseae) o en ramas secas de *Rubus ulmifolius* (Rosaceae), una vez finalizado el proceso de construcción de nido, inicia el proceso de forrajeo, elaborando una masa de alimento, principalmente de polen y néctar, sobre la cual deposita un huevo, y sella la celda con un tabique de aserrín obtenido de la construcción del nido. La hembra repite esta secuencia de pasos hasta completar la construcción del nido, que contendrá entre 3 y 7 celdas cuyos tabiques permanecen intactos hasta la emergencia del adulto (Flores-Prado et al., 2008) (**Fig. 1**).

2. Zona de estudio

Este estudio se desarrolló en la localidad de Vilches Alto, VII Región (35°29'S; 70°58'W) (**Fig.2**), durante los días 22 de Noviembre (T1), 7 de Diciembre (T2) y 22 de Diciembre (T3) del año 2013, desde las 11:00 hasta las 19:00 hrs.

En cada periodo de recolecta, se muestrearon sistemáticamente las mismas

zonas de nidificación (A, B y C), desde las cuales se extrajeron nidos de *M. postica* y la vegetación circundante a la zona de nidificación.

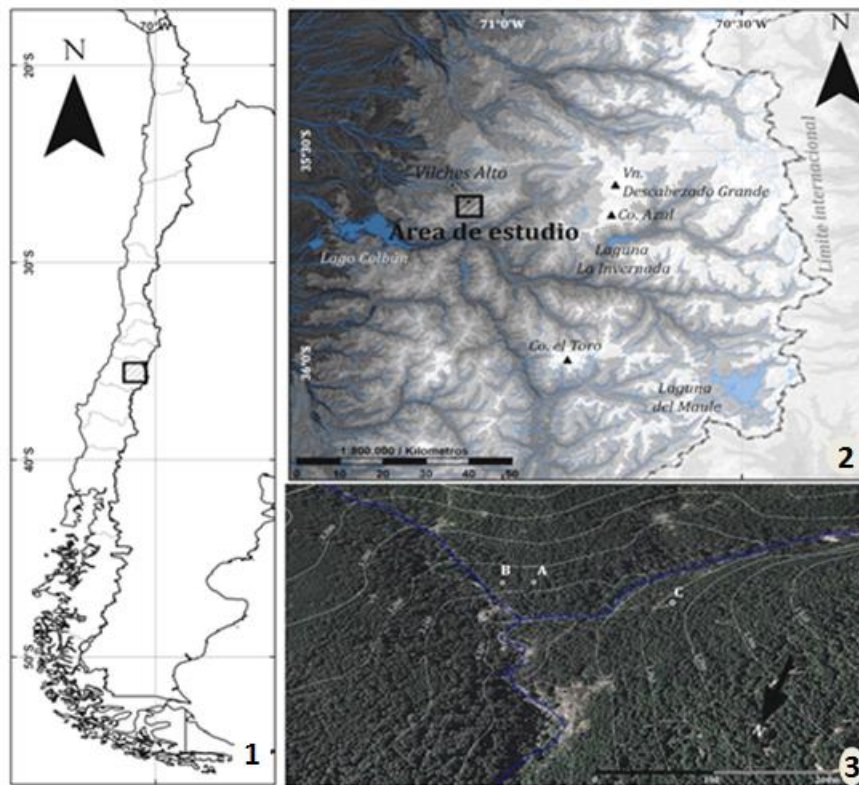


Figura 2. Ubicación del área de estudio (1, 2) y las zonas de nidificación de *M. postica* (3).

La zona de estudio corresponde a un bosque caducifolio mediterráneo andino de *Nothofagus obliqua* y *Austrocedrus chilensis*, destacándose además elementos típicos del bosque esclerófilo como *Cryptocarya alba*, *Aristotelia chilensis*, *Peumus boldus* y *Kageneckia oblonga*. También destacan en la composición vegetal: *Alstroemeria revoluta*, *Azara integrifolia*, *Baccharis rhomboidalis*, *Berberis actinacantha*, *Dioscorea brachybotrya*, *Gevuina avellana*, *Lomatia dentata*, *Lomatia hirsuta*, *Luma apiculata*, *Ribes punctatum*, *Nothofagus*

glauca, *Nothofagus obliqua*, *Quillaja saponaria*, *Schinus polygamus*, *Sophora macrocarpa* y el helecho *Adiantum chilensis* (Luebert & Pliscoff, 2006)

3. Recolección de nidos

Se recolectaron ramas de *C. quila* con evidencias visibles de la presencia de nidos de *M. postica* (orificios de entrada). Dicho agujero fue sellado con cinta teflón y luego cinta enmascarante (*masking tape*).

Los nidos fueron recolectados al inicio de la temporada de nidificación, para evitar sesgo por consumo de las masas de alimento. De esta manera se extrajeron sólo las masas de alimento que contenían larvas en estado predefecante, es decir, en el primer estadio de desarrollo (Flores-Prado et al., 2008). Las masas se almacenaron a 5°C en tubos *Eppendorf*® de 1,5 ml y las larvas se sumergieron en alcohol al 70%.

4. Oferta del recurso

a) Distancia de forrajeo.

En la mayoría de las abejas los rangos de forrajeo son desconocidos; sin embargo, Greenleaf & Williams (2007) propusieron un modelo general con el cual es factible estimar la distancia máxima de forrajeo en abejas solitarias y sociales. Para ello correlacionaron, a través de una regresión lineal, las distancias de forrajeo descritas para abejas solitarias y sociales con la longitud intertegular (IT) de abejas adultas.

Para *M. postica*, se estimó la distancia de forrajeo correlacionando la distancia de forrajeo descrita para especies solitarias (Greenleaf & Williams, 2007)

y la longitud intertegular (promedio 1,7 mm) medida en N= 100 individuos. La distancia de forrajeo fue estimada en 120 m.

Tomando en cuenta la distancia de forrajeo estimada para *M. postica*, y la morfología del terreno de las zonas de nidificación, se construyó una cuadrícula de 100 x 100 m en torno a cada zona de nidificación (**Fig. 3**). Cada 25 m se estableció un punto de muestreo correspondiente a 1 m², en cada uno de los cuales se realizó un catastro de la vegetación y se recolectó material para herborización.

b) Diversidad de especies vegetales que representan el recurso disponible.

Para conocer la frecuencia absoluta de las especies vegetales disponibles como recurso de alimentación, se contabilizó el número total de individuos de cada especie vegetal por unidad muestral (1m²); la frecuencia relativa se obtuvo a través de la relación de los registros absolutos de cada especie con el número total de registros de todas las especies del cuadrante.

Adicionalmente, se determinó la diversidad y similitud entre las tres zonas de muestreo por medio de los Índices de Shannon-Wiener y de Jaccard, respectivamente.

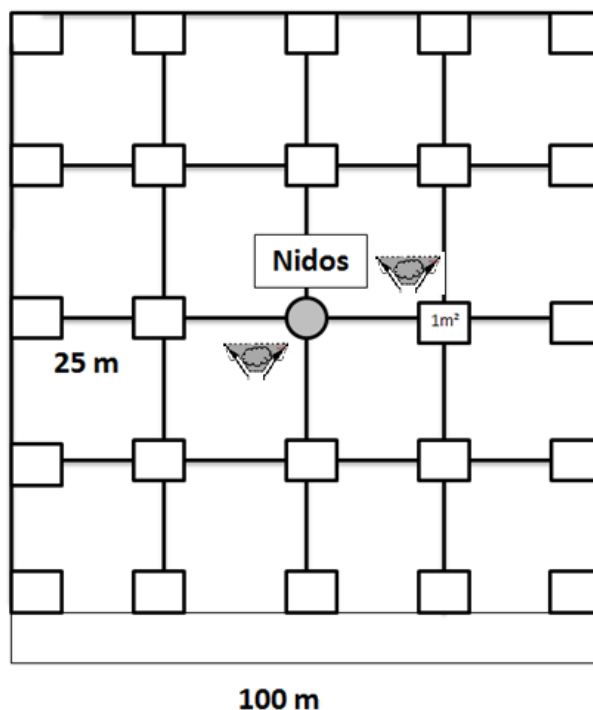


Figura 3. Cuadrante de 100 x 100 m en torno al sitio de nidificación (punto central) y las trampas de polen (figuras) ubicadas a 2 m de la zona de nidificación.

5. Cuantificación de proteínas

a) Preparación de las masas de alimento

Previo a los análisis químicos de cuantificación de proteínas y de recuento de polen, a cada masa de alimento (N=45) se le determinó el peso seco; la deshidratación hasta peso constante se consiguió utilizando un desecador con silica gel a temperatura ambiente por 3 días.

Luego de la deshidratación, cada una de las masas fue suspendida por 1 h en 5 ml de NaOH 0,1 M, este ambiente alcalino que favorece la solubilización de las proteínas y las prepara para su cuantificación (Clive & Compton 1989; Stoscheck, 1990). Por otro lado, se realizaron pruebas de laboratorio que

demonstraron que la solución alcalina no alteró la morfología de la pared del grano de polen, una condición esencial pues las características y ornamentaciones del grano del polen son rasgos fundamentales para identificar su origen botánico.

De la suspensión madre de 5 ml se recolectaron 2 ml para el análisis de proteínas y 2 ml para el recuento y determinación botánica del polen.

b) Aplicación del método de Bradford

Para cuantificar las proteínas presentes en cada masa de alimento, se utilizó el método de Bradford (1976). El reactivo de Bradford contiene el colorante azul de Coomassie (Coomassie Brilliant Blue G-250) que al unirse a las proteínas cambia su máximo de absorbancia de 365 a 595 nm. El complejo proteína-colorante presenta un alto coeficiente de extinción lo que permite obtener una gran sensibilidad a la presencia de proteínas, del orden de microgramos de proteína. El método ha sido exitosamente utilizado en otros estudios de proteínas en polen (Roulston et al., 2000; De Sá Otero et al., 2009, 2011; Montenegro et al., 2012; Vanderplank et al., 2014).

c) Curva de calibración

Para la preparación del estándar de calibración se preparó una solución madre con 3 mg de seroalbúmina de bovino (BSA) disueltos en 1 ml de agua destilada. De esta solución madre, se tomaron una serie de 10 alícuotas (desde 2,5 a 25 μ l) a las que se agregó 200 μ l del reactivo de Bradford y se enrasó hasta completar 1 ml con NaOH 0,1 M. Se midió en cada muestra la absorbancia a 595 nm. Con las concentraciones conocidas se construyó una recta de calibración ($y =$

$0,0556x + 0,0530$, donde y = absorbancia a 590 nm, x = concentración de proteína en $\mu\text{g/ml}$) a partir de la cual se determinó la concentración de proteínas en muestras desconocidas.

d) Cuantificación de proteínas en las masas de alimento

La solución madre de 5 ml en la que estaba disuelta la masa de alimento, se re-suspendió usando un vortex por 5 min. De esta suspensión se tomaron 2 ml de muestra y se volcaron en tubos Eppendorf de 2,5 ml. A cada tubo se le adicionaron 10 bolitas de acero; luego, los tubos se agitaron en un pulverizador por 3 minutos, asegurando así la ruptura total de la pared del grano y la liberación del contenido citoplasmático. Posteriormente se extrajeron las bolitas de acero y las muestras fueron sometidas a un golpe de calor de 70 °C por 1 min. Se resuspendió cada muestra usando un vortex por 3 min y de cada una se recolectaron 6 μl a los cuales se les adicionó 200 μl del reactivo de Bradford y 794 μl de NaOH 0,1 M (hasta completar 1 ml). La lectura de absorbancia se realizó en un espectrofotómetro OPTIZEN POP a 595 nm. Se realizaron tres réplicas por muestra.

Posteriormente se contrastó el contenido de proteína de cada masa de alimento con el contenido de proteína promedio (Roulston et al., 2000; Montenegro, 2012) de las familias botánicas a las que pertenecen los granos de polen identificados en las masas de alimento.

6. Análisis palinológico de las masas de alimento

De cada masa de alimento, previamente suspendida en 5 ml de NaOH 0,1 M, se recolectaron 2 ml de muestra que fueron mezclados con 2 ml de ácido acético glacial como tratamiento previo al proceso químico con ácidos fuertes. Posteriormente se centrifugó por 5 min a 3200 rpm. Una vez descartado el sobrenadante, al sedimento se adicionó la solución de acetólisis: 4,5 ml de ácido acético glacial y 0,5 ml de ácido sulfúrico concentrado (Faegri & Iversen, 1989). Para obtener la cantidad de granos de polen promedio, desde la solución acetolizada, se recolectaron 3 alícuotas de 12 μ l cada una, las que fueron depositadas en la cámara de recuento de Neubauer, contabilizadas en un microscopio óptico (Olympus YZ) a 400x de aumento y promediado su valor.

Para la determinación del origen botánico del polen se construyó una colección de referencia acetolizada (Faegri & Iversen, 1989) de las especies recolectadas en terreno. Para identificar los granos de polen que aparecieron en las masas de alimento pero que no se encontraron entre los granos de polen de las especies recolectadas en terreno, se utilizaron claves taxonómicas y descripciones de la literatura (Heusser, 1971; Hesse et al., 2009).

7. Selección del polen

Para evaluar la selección del polen que pudieran efectuar las hembras de *M. postica* en las zonas de muestreo A, B y C se utilizó el índice de selección de Savage, comparando la frecuencia relativa de los taxones, representados en el contenido polínico de las masas de alimento (dieta- U_i) con la frecuencia relativa de esos taxones, determinados en la vegetación circundante (recurso- D_i) a la zona de nidificación. El índice ($W_i = U_i/D_i$), relaciona el uso de un recurso dado (U_i) con su disponibilidad (D_i), determinando así su selección (W_i). Toma valores desde 0 (máximo rechazo) hasta infinito (máxima selección), siendo 1 el valor que indica que el recurso se consume por azar. El índice permite calcular un estadígrafo con una distribución de χ^2 con un grado de libertad. El estadígrafo se calcula de la siguiente manera: $(W_i - 1)^2 / ee(W_i)^2$, donde $ee(W_i)$ es el error estándar y se estima como: $\sqrt{(1 - D_i)/(u \times D_i)}$, donde u es el número promedio de granos de polen por masa de alimento. El estadígrafo determinado se compara con el valor obtenido de una tabla de contingencia para el nivel de confianza del 95% ($\chi^2 = 3,8415$): si el valor es mayor que 3,8415, el índice es significativo, y vice-versa.

8. Lluvia de polen

Para caracterizar de manera más completa la diversidad floral presente entre los periodos de recolección de las masas de alimento, se utilizó la técnica de lluvia de polen.

a) Técnica de muestreo

Esta consistió en ubicar a nivel de suelo, en cada una de las zonas de nidificación A, B y C y por periodo de recolección T1, T2 y T3, 2 trampas de polen modificadas a partir de Gosling et al. (2003), que corresponden a embudos de 9 cm de diámetro recubiertos internamente con papel filtro y algodón con glicerina, protegidos externamente por una rejilla metálica cuadrículada de 0,5 x 0,5 cm (Fig. 4). Los periodos comprendidos en el análisis de lluvia de polen fueron:

(T1) = desde el 8 de noviembre hasta el 22 de noviembre, N= 6 trampas

(T2) = desde el 22 de noviembre hasta el 8 de diciembre, N= 6 trampas

(T3) = desde el 8 de diciembre hasta el 22 de diciembre, N= 6 trampas

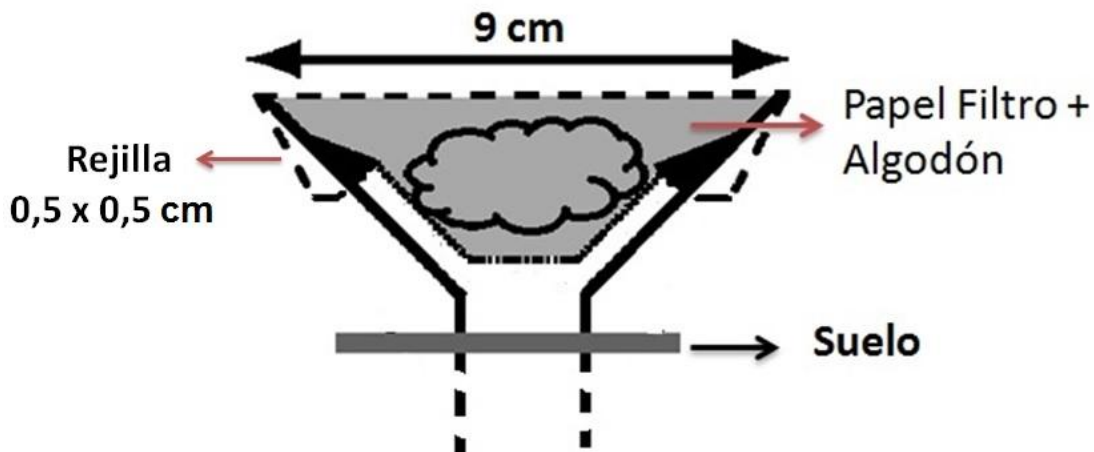


Figura 4. Trampa de polen modificada a partir de Gosling et al. (2002)

b) Protocolo para el análisis de las trampas de polen

El papel filtro y el algodón de cada trampa de polen (N=18; 6 por cada período de colecta) fue desmenuzado mecánicamente y distribuidos en 8 tubos Falcon de 50 ml. A cada tubo Falcon se le adicionaron 30 ml de HCl al 10% y 2 pastillas con esporas de *Lycopodium clavatum* (TRACERS *Lycopodium*, S&H) y luego se mantuvieron a 70°C por 30 minutos en un sonicador. La suspensión fue centrifugada a 3500 rpm durante 10 min. Los residuos sólidos se lavaron 2 veces con 40 ml de agua destilada, centrifugando entre cada lavado a 3500 rpm por 10 min. Las muestras sólidas fueron secadas en una estufa a 40°C por 2 días, lavadas 1 vez con 30 ml de ácido acético glacial y acetolizadas agregándoles 4,5 ml de anhídrido acético y 0,5 ml de ácido sulfúrico y dejándolas en un baño termostático a 70°C por 5 min (Faegri & Iversen, 1989). El residuo se lavó con 30 ml de ácido acético glacial, se centrifugó a 3500 rpm por 10 min y luego se lavó con 40 ml de agua destilada y se volvió a centrifugar a 3500 rpm por 10 min. Finalmente, las muestras de polen acetolizadas fueron tamizadas usando una malla de 120 µm. Las muestras se almacenaron en tubos Eppendorf de 1,5 ml con glicerina.

c) Determinación del origen botánico del polen

La determinación del origen botánico del polen se realizó de la misma manera en que se efectuó para las masas de alimento construidas por las hembras de *M. postica* (ver punto 6 de la sección Materiales y Métodos).

9. Inversión parental en reproducción

Para estimar la potencial inversión parental en reproducción de *M. postica*, se midió la longitud de cada uno de los nidos recolectados y, para evaluar si la longitud de los nidos se asocia con el porcentaje de proteína de las masas que alberga, se correlacionaron ambas variables. Además, se correlacionaron la cantidad de granos de polen que conforman la masa de alimento y su porcentaje de proteína, y también el peso de cada masa con su porcentaje proteico.

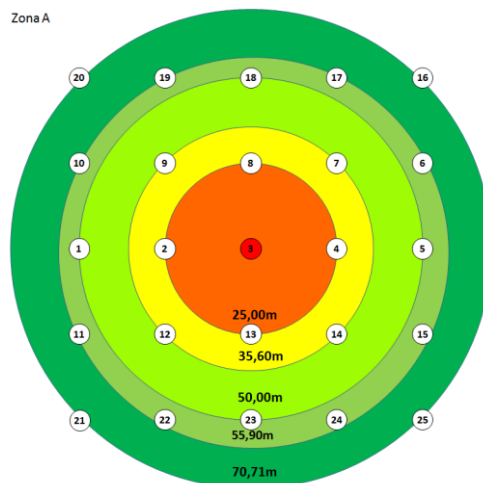
Resultados

1. Recolección de nidos

Se recolectaron un total de 105 ramas de *C. quila*, de las cuales solo 31 contenían masas de alimento y por lo tanto pudieron utilizarse para este estudio. El resto de los nidos presentó ausencia de masas de alimento, individuos en un estado de desarrollo avanzado o agrupaciones hibernantes (agrupaciones de abejas adultas recién emergidas de sus celdas de desarrollo).

2. Oferta del recurso

Debido a la topografía del terreno en el que se ubican las zonas de nidificación, sólo fue posible establecer un máximo de 22 puntos de muestreo para la zona B y 20 puntos para la zona C. Dado lo anterior, la distancia entre algunos puntos de muestreo fue menor a los 25 m propuestos en la metodología (**Fig. 5**)



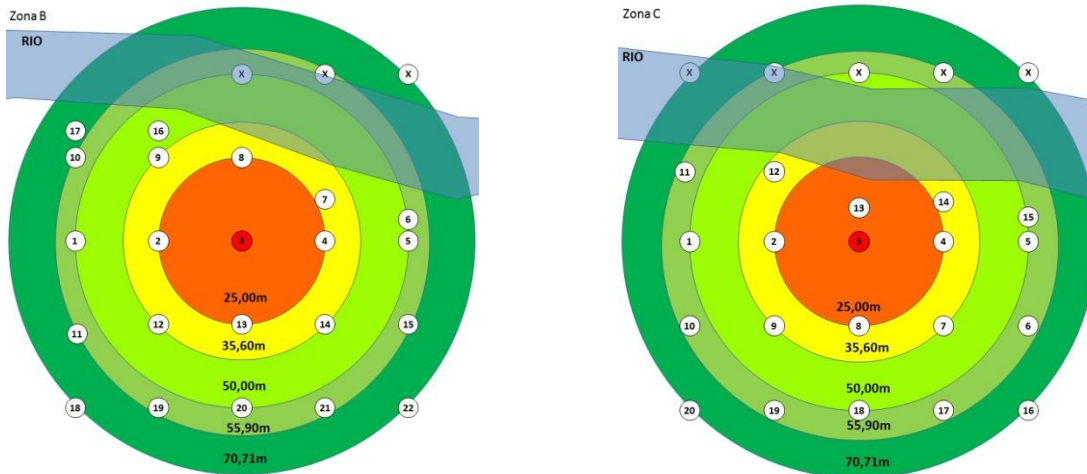


Figura 5. Zonas de nidificación A, B y C. En su interior se muestran los puntos de muestreo de la vegetación y una escala para estimar la distancia entre los puntos.

3. Catastro de la vegetación

El catastro de la vegetación, por sitio y período de recolección, indicó la presencia de un total de 37 especies pertenecientes a 29 familias entre las zonas de nidificación A, B y C. En su mayoría son especies nativas que tienen períodos de floración amplios que abarcan desde Septiembre hasta Enero y en algunos casos hasta Marzo, como sucede con *Colliguaja intergerrima* y *Baccharis linearis* y también con las especies introducidas *Taraxacum officinale* y *Rumex acetosella* (**Anexo 2, Tabla 2**). Las frecuencias relativas de las especies descritas, presentaron valores desde 0,25 hasta 23% entre los tres periodos estudiados (**Anexo 2, Tabla 3**).

También se caracterizó la vegetación en términos de diversidad y similitud, por cada zona de nidificación (A, B y C) y por periodo de recolección de nido (22 noviembre, 7 diciembre y 22 diciembre), a través del índice de Shannon y del

índice de Jaccard. Se observó que la vegetación en términos de diversidad y similitud mostró valores cercanos entre sí ($H = 2,55 - 2,82$; promedio \pm d.e. = $2,68 \pm 0,092$; Jaccard: entre 42 y 57%) (**Anexo 2, Tabla 4**). Sin embargo, al permutar los datos (750 permutaciones, 95% confianza) de vegetación por cada zona con las tres periodos estudiados (A -T1, T2 y T3; B -T1, T2 y T3; C - T1, T2 y T3), con el objeto de efectuar comparaciones, se encontró diferencias significativas entre los sitios A, B y C (ANOVA: $F_{2,747} = 1054,6$; $p < 0,0001$).

Lluvia de polen

Durante los tres periodos, los grupos mayormente representados correspondieron a las familias anemófilas como Nothofagaceae, Podocarpaceae y Poaceae, aunque también se detectó la presencia de polen de taxones ausentes en las masas de alimento, tales como *Drimys winteri*, *Rumex* sp., *Stellaria* sp., *Taraxacum* sp. y la familia Apiaceae.

Análisis palinológico de las masas de alimento

El contenido proteico de las masas de alimento fue contrastado con el contenido de proteína descrito en otros trabajos, para las 2 familias más abundantes de cada masa de alimento (con la excepción de 6 masas en las que se consideraron tres familias pues ellas estaban en proporciones muy similares), las que en su mayoría conforman al menos el 70% del polen en cada masa de alimento (**Anexo 2, Tablas 5-8**)

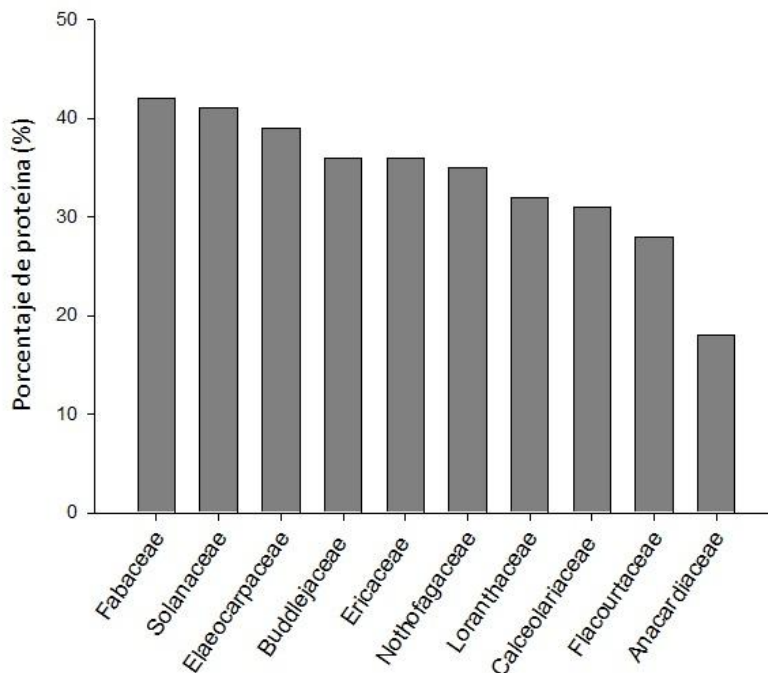


Fig 6. Porcentaje de proteína de las familias botánicas mayormente representadas en las masas de alimento.

Considerando los tres periodos de recolección, las masas de alimento contenían en promedio un 36,6% de proteína y estuvieron conformadas por familias botánicas cuyo porcentaje de proteína promedio es mayor que 30% como es el caso de Fabaceae, Elaeocarpaceae y Ericaceae (**Fig 6**), aunque también la abeja recolectó granos de polen de especies nativas con contenido proteico menor que 30%, como *Azara serrata* con 28% (Flacourtiaceae) y *Schinus* sp. con 18% (Anacardiaceae). En general, los nidos estudiados albergaban entre una y dos masas de alimento, excepto el nido B1 que contenía 6 masas de alimento y que mostró un porcentaje de proteína promedio de sus masas de $35,11 \pm 4,8\%$. El valor de la desviación estándar informa que no hay grandes diferencias en el

contenido de proteína entre las masas de alimento pertenecientes al mismo nido **(Anexo 2, Tabla 8)**. Sólo los nidos B4 y B18, con 2 masas cada uno, presentaron variaciones notorias en el contenido de proteína promedio de sus masas: $29,3 \pm 14,99\%$ y $38,9 \pm 14,0\%$, respectivamente **(Anexo 2, Tabla 8)**.

Por otro lado, los valores más bajos de contenido proteico fueron encontrados en nidos con una única masa pertenecientes a la zona B y al mismo período de recolección, 22 de noviembre. Los valores alcanzaron 29,9% para el nido B2 y 24,4% para el nido B7 **(Anexo 2, Tabla 8)**.

Las masas estuvieron conformadas principalmente por especies pertenecientes a la familia Fabaceae, que muestran un contenido de proteína promedio particularmente alto (42%). Entre ellas destaca la especie *Medicago* sp., que se encontró en 19 de las 45 masas de alimento, en todos los períodos estudiados, aunque ausente de los catastros de vegetación realizados para las zonas A, B y C.

Las masas de alimento (N=45) tuvieron un peso promedio de $40,4 \pm 8,0$ mg y no mostraron diferencias significativas entre los periodos de recolección (ANOVA: $F_{2,42}=0,378$; $p=0,68$). Tampoco mostraron diferencias significativas en el contenido de proteína entre los periodos estudiados (ANOVA: $F_{2,42}=2,191$; $p=0,124$). Sin embargo, la cantidad promedio de granos de polen (2338 ± 1134), sí mostró diferencias significativas entre los tres periodos (Kruskal-Wallis: $H_{2,29}=9,87$; $p=0,007$). Siendo la temporada T1 ($\bar{x}=2713$) la que registró mayor cantidad de granos de polen promedio en comparación con la temporada T2 ($\bar{x} = 2555$) y T3 ($\bar{x}=1735$)

Selección de polen

De las 37 especies en floración detectadas en las zonas de muestreo (**Anexo 2, Tabla 2**), sólo se encontró en las masas de alimento polen de 18 especies, que incluyen a 2 especies introducidas y 16 nativas; entre estas últimas, 6 son endémicas (**Anexo 2, Tablas 9-15**).

A lo largo de los tres periodos estudiados, hubo al menos 7 especies presentes en un alto número de masas de alimento (**Fig 7**) pero también hubo otras que estuvieron representadas en un bajo número de masas como: *Lomatia dentata* (en 7 masas), *Ribes punctatum* (6), *Dioscorea* sp. y *Chusquea culeou* (5), *Geranium berteroanum* y *Podocarpus salignus* (4) y *Calceolaria arachnoidea*, *Luma apiculata*, *Lathyrus multiceps*, *Sophora macrocarpa* y la especie introducida *Rosa rubiginosa* (sólo en 1 masa).

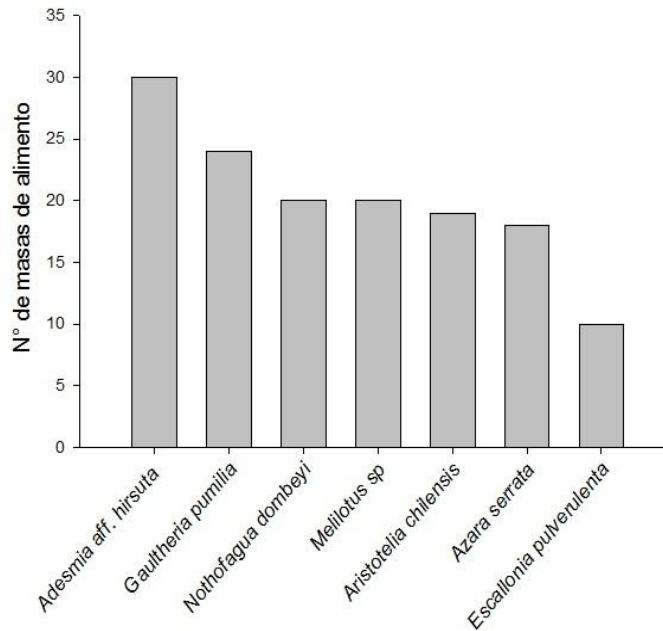


Fig. 7. Especies principalmente representadas en las masas de alimento. Éstas pertenecen a familias con un alto contenido de proteína (35-42%), a excepción de *Azara serrata* (Flacourtiaceae: 28%).

Adicionalmente, en las masas de alimento se identificaron especies que no se encontraron en las zonas de muestreo, por lo que no fue posible calcular el Índice de Savage respectivo. Sin embargo, éstas son especies que se encuentran en altos porcentajes en las masas de alimento, lo que permite inferir su selección; entre ellas destacan las especies introducidas *Medicago sp.* ($U_i = 18,75 - 65,5\%$) y *Galega officinalis* ($U_i = 16,23 - 51,5\%$), y las especies nativas *Fabiana imbricata* ($U_i = 13,29 - 59,19\%$) y *Tristerix sp.* ($U_i = 15,97 - 30,49\%$).

Por otro lado, el índice de Savage señaló que durante los tres períodos estudiados, las especies mayormente seleccionadas fueron cinco, que

pertenecen a familias con un alto contenido de proteína pero se encontraron en baja frecuencia relativa en la vegetación (**Fig. 8**).

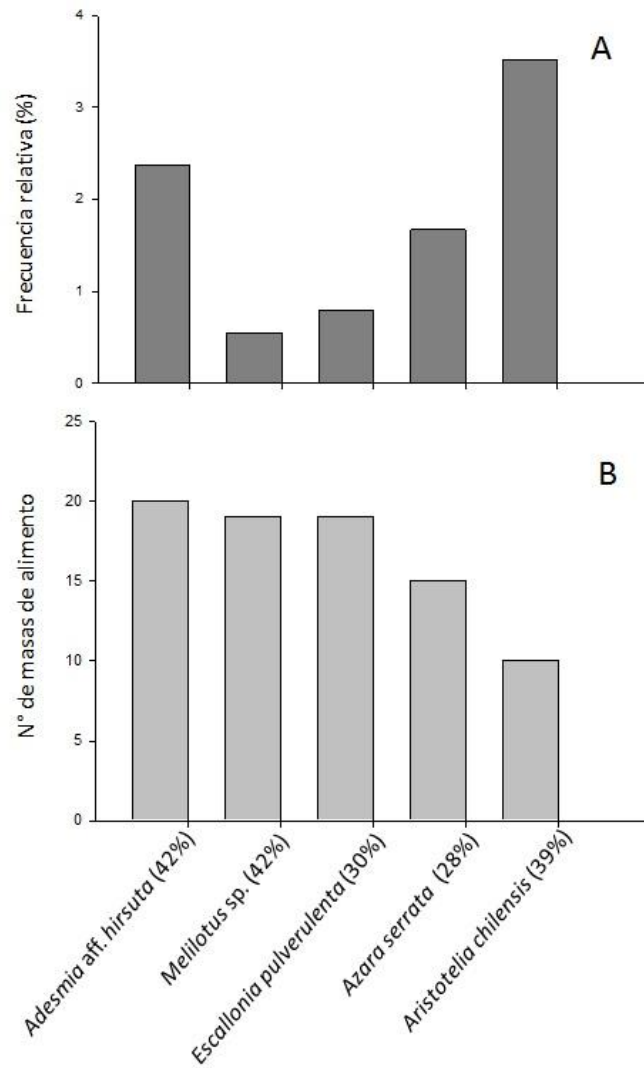


Fig. 8. A. Frecuencia relativa (%) de las especies representadas en la vegetación. **B.** Especies principalmente seleccionadas, en el polen de las masas de alimento, durante los tres periodos (T1, T2 y T3) de recolección de nidos. En paréntesis después del nombre de la especie, el porcentaje de proteína promedio por familia.

Cabe destacar que estas especies no fueron seleccionadas uniformemente a lo largo de las tres temporadas: *Adesmia* aff. *hirsuta* (T1=5/11; T2=4/7; T3=11/12), *Azara serrata* (T1=3/3; T2=2/4; T3=10/11), *Aristotelia chilensis* (T1=10/14; T2=0/0; T3=0/5), *Escallonia pulverulenta* (T1=0/1; T2=0/1; T3=8/8) y *Melilotus* sp. (T1=6/6; T2=0/0; T3=12/14)

Otras especies fueron detectadas en varias masas de alimento, aunque mostraron una selección más baja: *Gaultheria pumilia* (apareció en 24 masas de alimentos y fue seleccionada en 4), *Nothofagus dombeyi* (apareció en 20 masas de alimentos y fue seleccionada en 5) y *Aristotelia chilensis* (apareció en 19 masas de alimentos y fue seleccionada en 10).

Por otra parte, hubo especies que según el índice de Savage fueron rechazadas por la abeja a pesar de estar en una alta frecuencia relativa en la vegetación y pertenecer a familias botánicas con un contenido de proteína alto **(Fig. 9)**

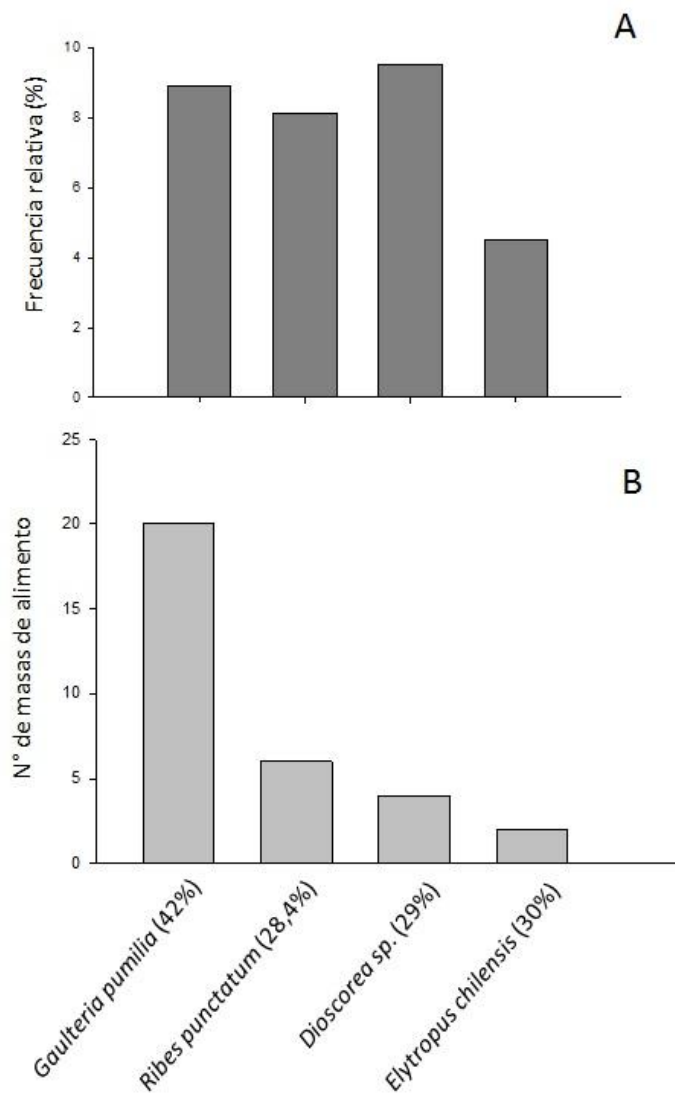


Fig. 9. A. Frecuencia relativa (%) de las especies representadas en la vegetación. **B.** Especies principalmente rechazadas, durante los tres periodos (T1, T2 y T3) de recolección de nidos. En paréntesis después del nombre de la especie, el porcentaje de proteína promedio por familia

Cabe destacar que para la familia Grossulariaceae (*Ribes punctatum*) se desconoce el porcentaje de proteína. Esta familia pertenece al orden Saxifragales,

en el cual sólo se ha descrito el polen de la familia Hamamelidiaceae con un 28,4% de proteína (Roulston et al., 2000; Cole et al., 2016).

También hubo otras especies, como *Alstroemeria presiliana* y *Berberis actinacantha* que mostraron una alta frecuencia relativa en la vegetación (promedios: 9,0; y 5,9% respectivamente), aunque el polen de éstas estuvo ausente en las masas de alimento.

Inversión parental en reproducción

De los 31 nidos recolectados, sólo 28 fueron analizados, debido a que 3 se encontraban en mal estado, imposibilitando medir su longitud. Los nidos mostraron una longitud promedio de $104,5 \pm 38,4$ mm y en general sólo contenían un máximo de 2 celdas (debido a que aún no se completaba la construcción de la totalidad de las celdas del nido), con la excepción del nido B1 (**Anexo 2, Tabla 8**).

Adicionalmente, no se encontró correlación entre la longitud de los nidos y la concentración promedio del contenido proteico de las masas ($R = 0,05$; $P = 0,78$; $N = 28$). Por lo tanto, se sugiere que las hembras construyen masas de alimento cuyo contenido de proteína es independiente del largo del nido que las alberga. Por otro lado, se encontró una correlación negativa y altamente significativa entre el peso de la masa de alimento y su contenido de proteína (correlación de Pearson: $R = -0,547$; $P = 0,0001$; $N = 45$); por lo tanto, las masas de mayor tamaño no son las que contienen mayor cantidad de proteínas.

Discusión

Análisis palinológico y cuantificación de proteína

Para las hembras de *M. postica*, la construcción de una masa de alimento altamente nutritiva es fundamental para el desarrollo exitoso de su progenie, ya que el polen recolectado en cada masa de alimento es un aporte directo y por única vez, de proteínas y otros nutrientes a la dieta de la larva (Campos et al., 2008).

Los análisis palinológicos y la cuantificación proteica muestran que las masas de alimento están conformadas por un espectro amplio, de al menos 18 especies, de las cuales 7 se encuentran en un gran número de masas de alimento. Ellas son las especies nativas *Adesmia* aff. *hirsuta*, *Escallonia pulverulenta*, *Azara serrata*, *Gaultheria pumilia* y *Nothofagus dombeyi*, la endémica *Aristotelia chilensis*, y la introducida *Melilotus* sp. Estas especies pertenecen a familias cuyo contenido proteico promedio es alto (36-42%). Aunque *Azara serrata* tiene un porcentaje solo levemente menor de proteína (28%), es recolectada durante los tres periodos estudiados y en el caso de abejas como *Apis mellifera*, se ha establecido que este tipo polínico es utilizado en momentos de alta demanda en la colmena como una fuente crucial de proteínas (Montenegro et al., 2012). Además, los extractos acuosos del polen de *Azara* sp. presentan un efectivo control antibacterial y antifúngico (Cabrera & Montenegro, 2013), lo que sugiere un motivo adicional por el cual esta especie podría estar siendo recolectada.

Por otro lado, las masas de alimento mostraron en promedio 36,6% de proteína, valor que supera el porcentaje mínimo (20%) publicado para la dieta de otras abejas como por ejemplo *A. mellifera* (Somerville, 2000). Un ejemplo de dieta exitosa, con 37% de proteína, similar a la de *M. postica*, fue la suministrada (junto a otras dietas en paralelo, con porcentajes proteicos variados) a larvas de la abeja *Lasioglossum zephyrum*, que se transformaron en machos y hembras de mayor talla corporal (Roulston & Cane, 2002). También en abejas de *Bombus terrestris* expuestas por separado a dietas de *Prunus* sp. (27% proteína), *Salix* sp. (20%) y *Taraxacum* sp. (17%), se evidenció en sus buches un alto consumo del polen perteneciente a la dieta con mayor contenido proteico; más aún, aquellos abejorros que fueron alimentados con polen de bajo porcentaje proteico, recolectaron menor cantidad de granos, lo que se tradujo en un retraso en la maduración de los ovarios y en la producción de las larvas (Aupinel et al., 2001), sugiriendo el efecto desfavorable de consumir una dieta monofloral y con bajo contenido proteico.

Por otro lado, se ha establecido que dietas con granos de polen con bajo contenido en proteína mezclados con otros de mayor cantidad proteica, obtienen mejores resultados para el tamaño corporal de los individuos (Tasei & Aupinel, 2008) debido a que un aumento en la diversidad floral en la dieta provee un balance de los aminoácidos esenciales entre los granos de polen recolectados (Wiener et al., 2010) lo que conlleva a un efecto positivo directo sobre la salud e inmunocompetencia en abejas como *A. mellifera* (Alaux et al., 2010). Es importante destacar que en abejas, los individuos de mayor talla corporal

obtendrán ventajas en fecundidad y oportunidad de cópula (Roulston & Cane, 2002).

Por otro lado, al comparar las masas de alimento entre los tres períodos de recolección no se evidenciaron diferencias significativas ni entre el peso de las masas ni en el contenido de proteína de éstas; sin embargo, sí hubo diferencias significativas entre la cantidad de granos de polen que las conforman. Esto sugiere que las hembras, dado su comportamiento de forrajeo poliléctico, recolectarían una mayor o menor cantidad de granos de polen de especies vegetales distintas y con ello ajustarían el contenido proteico de las masas de alimento y de esta manera aprovisionarían de forma similar – en cuanto a cantidad de proteínas - a su descendencia.

Selección de recurso

Las especies florales mayormente seleccionadas durante los tres periodos estudiados, según el índice de Savage, son las nativas *Adesmia aff hirsuta*, *Azara serrata*, *Escallonia pulverulenta* y la especie introducida *Melilotus* sp. Estas especies se encuentran en baja frecuencia relativa en las zonas de estudio, pero pertenecen a familias botánicas cuyo polen posee un contenido proteico relativamente alto, entre 28 y 42%. Sumado a lo anterior, *Azara* sp. y *E. pulverulenta* podrían haber sido seleccionadas pues sus granos de polen poseen compuestos fenólicos que están asociados a propiedades antimicrobianas (Montenegro et al., 2012).

También se encuentran representadas en las masas de alimento especies ausentes de la zona de nidificación, por lo que no se pudo determinar para ellas el

índice de Savage. Sin embargo, dado su porcentaje en la masa, fueron consideradas como especies seleccionadas por parte de la abeja, destacando entre ellas las introducidas *Medicago sp.* y *Galega officinalis* y las nativas *Fabiana imbricata* y *Tristerix sp.*, todas especies que pertenecen a familias botánicas con un contenido proteico alto cuyo rango va entre 32 y 42%. *Medicago sp.* (presente en 19 de 45 masas) y *Galega officinalis* (presente en 37 de 45 masas) están descritas como importantes recursos de néctar para las abejas (Aupinel et al., 2001; Montenegro et al., 2012). *Fabiana imbricata* (41% de contenido proteico), si bien está presente en las masas hasta en 59%, su selección se restringe a 12 de 45 masas. En el caso de *Tristerix sp.* (32,2% de contenido proteico; presente en 10 de 45 masas) estudios previos indican que el néctar posee una alta cantidad de sacarosa, un componente atractivo para abejas (Chalcof et al., 2006).

Evidencia sobre una selección de recurso basada en su importancia nutricional ha sido descrita en otras especies de abejas, particularmente del género *Bombus*, que colectan polen preferentemente de especies vegetales con mayor contenido proteico (Hanley et al., 2008). Tal es el caso de *Bombus impatiens* que no colectó polen desde cultivos que producían granos de polen estériles o con ausencia de contenido celular (Batra, 1993), e individuos de *Bombus terricola* que no se posaron ni recolectaron polen de una variedad de papa (*Solanum sp.*) cuyo polen también se detectó estéril; sin embargo, sí recolectaron granos de polen viables de cultivos contiguos (Arndt et al., 1990).

Otras especies a pesar de tener porcentajes de proteína promedio relativamente altos (hasta 36%), fueron recolectadas en bajos porcentajes, con respecto a su representación en el ambiente. Entre ellas están *Ribes punctatum*,

Elytropus chilensis, *Discorea* spp., *Gaultheria pumilia* (Ericaceae) y *Berberis actinacantha*; esta última no apareció en las masas de alimento. Observaciones de campo indican que individuos de *M. postica* forrajearon activamente sobre *R. punctatum* y *E. chilensis*, de modo que la baja o nula representación de su polen en la masa de alimento sugiere que las hembras adultas utilizarían este polen como su propia fuente de alimento, transfiriéndolo solo en menor medida a su descendencia. Por otro lado, el rechazo o baja recolección de algunas especies, como las antes mencionadas, podría deberse a la presencia de metabolitos secundarios nocivos para las larvas, particularmente de alcaloides, que han sido registrados en el polen, en el néctar y en las partes aéreas de algunas de estas especies (Adler, 2000; Manson & Thompson, 2009; Sedivy et al., 2012).

Las especies del género *Dioscorea* suelen contener los alcaloides dioscorina y dihidrodioscorina, compuestos tóxicos e insecticidas (Okwu & Ndu, 2006) y ciertas especies de la familia Ericaceae poseen en su néctar compuestos repelentes o tóxicos para las abejas como el acetilandromedol (Adler, 2000). El argumento podría aplicarse también a *Berberis actinacantha*, representada en 9,0% en la vegetación, pero ausente de los registros taxonómicos de las masas de alimento, que posee el alcaloide berberina (Srivastava et al., 2015), altamente tóxico en bajas dosis para abejas del género *Apis* (Detzel & Winck, 1993). Posiblemente la presencia de estos metabolitos secundarios u otros, tanto en el néctar como en el polen, actuarían como disuasorios para la abeja, limitando la recolección de esos granos de polen, a pesar de poseer un alto contenido proteico.

Los alcaloides presentes en el polen tienen efectos directos sobre el desarrollo de los individuos inmaduros expuestos a ellos. Por ejemplo, las larvas de las abejas solitarias *Chelostoma rapunculi* y *Heriades truncorum* expuestas a dietas con polen y extractos con bajas concentraciones de ranunculina, metabolito secundario tóxico proveniente del polen de *Ranunculus* sp., sufrieron retraso en el desarrollo larval y en altas concentraciones sufrieron la muerte (Sedivy et al., 2012). También se ha evidenciado que en larvas de *Apis mellifera* alimentadas con polen de *Stryphnodendron polyphyllum* (Fabaceae), conocido por su toxicidad, no lograron completar su desarrollo, fallando al momento de pasar del estado larval a pupa (De Carvalho, 2004). Sumado a lo anterior, Detzel & Wink (1993) establecieron que al menos siete alcaloides probados en dietas con polen fueron tóxicos para la abeja de miel y que en altas concentraciones, alcanzaron niveles de mortalidad entre un 75 y 100% de los individuos.

Los resultados del presente estudio sustentan la hipótesis que *Manuelia postica* selecciona en mayor porcentaje fuentes de alimento de acuerdo a su calidad nutricional, independientemente si las plantas que los producen se encuentran en alta o baja frecuencia en las zonas de nidificación. Por otro lado, hay especies que a pesar de su alto contenido de proteína fueron rechazadas o recolectadas en bajos porcentajes, o en algunos casos hubo una ausencia total de su polen en las masas de alimento lo que podría indicar la existencia de otros compuestos, nocivos o disuasorios para la abeja, que generan un rechazo total o una recolección mínima de sus granos de polen.

Si bien aún no están claros los mecanismos por los cuales las abejas seleccionan el polen altamente proteico, se ha establecido que los volátiles

presentes en el *pollenkitt* o sustancia que recubre la pared externa del grano de polen, podrían informar sobre la calidad de éste (Dobson et al., 2000). Lo que sí es claro, es que el contenido de proteína en el polen tiene implicancias en la decisión de forrajeo de las abejas, como ha sido propuesto para otras especies de abejas (Keller et al., 2005).

Implicancias de la inversión parental en reproducción de *Manuelia postica*

En abejas carpinteras se ha establecido que el número de celdas al interior del nido es un estimador de la fecundidad (Watmough, 1983). En este sentido, en *M. postica* se ha observado una correlación positiva entre la longitud del nido y el número de celdas en su interior (Flores-Prado & Niemeyer, 2012) y por consiguiente, entre la longitud del nido y el número de individuos que se desarrolla en esas celdas (Flores-Prado et al., 2014).

La inversión en reproducción que realiza la hembra construyendo nidos largos o cortos, también podría asociarse a la estrategia de forrajeo que la hembra utiliza para aprovisionar a su progenie. A través de ésta, no sólo recolecta granos de polen de variadas fuentes florales, sino que también selecciona el tipo de fuente floral dada su calidad. Sin embargo, en este estudio se determinó que no hay una correlación positiva entre la longitud del nido y el contenido promedio de proteína de las masas, lo que sugiere que el esfuerzo de forrajeo que realiza la hembra es independiente de la longitud del nido que excava o de la potencial progenie que se desarrolle en él. Aunque este esfuerzo de forrajeo sí es posible relacionarlo con la calidad misma de la masa. Los análisis de las masas de

alimento de los tres periodos de estudio mostraron que las masas tienen un contenido de proteína similar, aunque la cantidad de granos de polen que las conforman varía entre periodos. Ello sugiere que la hembra podría estar ajustando el contenido de proteína, a través de la cantidad de granos de polen que colecta, hasta alcanzar una masa lo suficientemente proteica como para garantizar el desarrollo exitoso de su progenie (Roulston et al., 2002; Paoli et al., 2014; Stabler et al., 2015). Este comportamiento de forrajeo selectivo, se ha evidenciado en otras abejas que recolectan una mayor cantidad de polen cuando éste es nutricionalmente pobre, compensando así su baja calidad (Wcislo & Cane, 1996).

Aun cuando el contenido proteico en la nutrición de las larvas es crucial para su desarrollo, es probable que aquellas larvas aprovisionadas con masas de polen de baja calidad o cantidad proteica sobrevivan pero se conviertan en adultos de menor tamaño corporal. En tal sentido, no se puede descartar la ocurrencia de compromisos entre el potencial número de descendientes y el tamaño corporal de éstos, tal como se ha evidenciado en otros insectos y artrópodos (ej. escorpión) donde la inversión energética destinada por la hembra a la reproducción, es proporcional al producto entre el número y el tamaño de la descendencia (Sloggett & Lorenz, 2008). Por otro lado, con independencia de la estrategia de forrajeo utilizada, selectiva o no selectiva, cuando los recursos destinados para cada individuo de la progenie son limitados, se requiere un esfuerzo de vuelo mayor, lo que implica un gasto energético adicional por parte de la hembra con el objeto de buscar los recursos, lo que podría repercutir en el número y/o tamaño de su progenie, como se ha evidenciado en las especies generalistas *Megachile*

rotundata (Peterson & Roitberg, 2006) y *Osmia lignaria* (Williams & Kremen, 2007).

Trampas de polen

Los datos de composición florística (frecuencias relativas y absolutas) y lluvia polínica permiten caracterizar en términos polínicos las principales comunidades vegetales existentes en una zona. Aunque la relación polen-vegetación no es uno a uno debido a las diferencias en la productividad y transporte del polen entre las distintas especies (Faegri & Iversen 1989), es una herramienta ampliamente utilizada para la obtención de datos sobre la flora de un lugar (Páez et al., 1997).

De acuerdo con la identificación taxonómica efectuada en las trampas de polen, se advierte la ausencia de algunos taxones en las masas de alimento, como *Drimys winteri* y *Taraxacum* sp. En el primer caso, la ausencia se podría atribuir a su alta producción y dispersión de polen a través del viento (anemófilo) y en el caso de *Taraxacum* sp. (especie entomófila), la ausencia se debería a su bajo contenido de proteína, que alcanza al 19% (Roulston et al., 2000).

En general, las trampas de polen para estudios como los de dieta en abejas, no fueron lo suficientemente informativos, principalmente porque el tiempo que las trampas estuvieron expuestas al ambiente fue corto (10-12 días) y porque la zona de estudio posee especies vegetales anemófilas, altamente productoras de polen, sobre-representando así su presencia en las muestras.

Conclusión

Las hembras de *Manuelia postica* aprovisionan sus nidos recolectando granos de polen de variadas fuentes vegetales con alto contenido proteico e independientemente si éstas se encuentran en alta o baja frecuencia relativa en la vegetación.

En general, *M. postica* durante los tres periodos de colecta seleccionó polen de especies nativas, particularmente de *Azara* sp. y *Adesmia* sp. Por otro lado, aquellas especies rechazadas o recolectadas en bajos porcentajes se caracterizaron por la presencia de metabolitos secundarios nocivos e incluso letales para el desarrollo larval.

Dado el eficiente transporte del polen que realizan las hembras de *M. postica*, estas abejas nativas podrían ser candidatas para estudios de polinización ya sea de cultivos con valor económico o para restaurar hábitats de plantas nativas, tal como se ha hecho en Brasil con abejas solitarias del género *Xylocopa*.

En cuanto a la inversión parental en reproducción, las hembras de *M. postica* destinan una gran cantidad de energía a reproducción lo que podría tener implicancias en el número y tamaño de su descendencia.

Referencias

- Adler LS (2000). The ecological significance of toxic nectar. *Oikos* 91: 409-420.
- Alaux C, Ducloz F, Crauser D & Le Conte Y (2010). Diet effects on honeybee immunocompetence. *Biology Letters* 6: 562-565.
- Avalos A, López E & Parada G (2010). Ecología trófica de *Manuelia postica* asociada a su nidificación y variables abióticas. Tesis para optar al título de profesor de biología y ciencias naturales. Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación.
- Allen-Wardell G, Bernhardt P, Bitner R, Burquez A, Buchmann S, Cane J, Cox P, Dalton V, Feinsinger, P, Ingram M, Inouye D, Jones C.E, Kennedy K, Kevan P, Koopowitz H, Medellín R, Medellín-Morales S & Nabhan P (1998). The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yields. *Conservation Biology* 12: 8-17.
- Arndt G, Rueda JL, Kidane-Mariam HM & Peloquin SJ (1990). Pollen fertility in relation to open pollinated true seed production in potatoes. *American Potato Journal* 67: 499-505.
- Aupinel P, Genissel A, Tasei J-N, Poncet J & Gomond S (2001). Collection of spring pollens by *Bombus terrestris* queens. Assessment of attractiveness and nutritive value of pollen diets. *Acta Horticulturae* 561: 101-105.
- Batra SWT (1984). Solitary bees. *Scientific American* 250: 120-127.
- Batra SWT (1993). Male-fertile potato flowers are selectively buzz-pollinated only by *Bombus terricola* Kirby in Upstate New York. *Journal of the Kansas Entomological Society* 66: 252-254.
- Bradford M (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Brown C (2003). Offspring size-number trade-offs in scorpions: an empirical test of the Van Noorwijk and De Jong model. *Evolution* 57: 2184-2190.
- Cabrera C & Montenegro G (2013). Pathogen control using a natural Chilean bee pollen extract of known botanical origin. *Ciencia e Investigación Agraria* 40: 223-230.
- Campos M, Bogdanov S, De Almeida-Muradian L, Szczesna T, Mancebo Y, Frigerio C & Ferreira F (2008). Pollen composition and standardisation of analytical methods. *Journal of Apicultural Research and Bee World* 47: 156–163.

Cargnello G, Gianazza E, Tedesco G & Cappella M (1988). Wall proteins of *Vitis vinifera* pollen I. Constancy of phenotype. *Vitis* 27: 45-55.

Carranza J. (1994). Etología, introducción a la ciencia del comportamiento. Primera edición. Ediciones Universidad de Extremadura. 591 pp.

Chalcoff V, Aizen M & Galetto L (2006). Nectar Concentration and Composition of 26 Species from the Temperate Forest of South America. *Annals of Botany* 97: 413-421.

Clive Hare D & Compton S (1989). Measuring plant protein with the Bradford assay. *Journal of Chemical Ecology* 15: 979-92.

Cole T, Hilger H & Medan D (2016). Filogenia de las Angiospermas – Sistemática de las plantas con flores (Poster), APG IV 2016.

Collao-Alvarado K (2012). Estudio de la biología de nidificación de *Manuelia gayatina* (Apidae: Xylocopinae) arquitectura, contenido y aprovisionamiento de los nidos. Tesis para optar al título de Biólogo. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Cook S, Awmack C, Murray D & Williams I (2003). Are honey bees' foraging preferences affected by pollen amino acid composition? *Ecological Entomology* 28: 622–627.

Daly H, Michener CD, Moure JS & Sakagami S.F (1987). The relictual bee genus *Manuelia* and its relation to other Xylocopinae (Hymenoptera: Apoidea) *Pan Pacific Entomologist* 63: 113-268.

Danforth B (1990). Provisioning behavior and the estimation of investment ratios in a solitary bee, *Calliopsis (Hypomacrotera) persimilis* (Cockerell) (Hymenoptera: Andrenidae) *Behavioral Ecology and Sociobiology* 27: 159-168

De Carvalho C (2004). A scientific note on the toxic pollen of *Stryphnodendron polyphyllum* (Fabaceae, Mimosoideae) which causes sacbrood-like symptoms. *Apidologie* 35: 89–90

De Sá Otero M, Armesto-Baztan S & Díaz-Losada E (2009). Analysis of protein content in pollen loads produced in north-west Spain. *Grana* 48: 290-296.

De Sá Otero M, Díaz-Losada E & Armesto-Baztan S (2011). Caracterización de mieles de obtención artesanal y comerciales producidas en Galicia (NO de España) a partir de su espectro polínico y contenido proteico. *Botánica Complutensis* 35: 131-140.

Detzel A & Wink M (1993). Attraction, deterrence or intoxication of bees (*Apis mellifera*) by plant allelochemicals. *Chemoecology* 4: 8-18.

Dobson H & Peng Y (1997). Digestion of pollen components by larvae of the flower-specialist bee *Chelostoma florissomne* (Hymenoptera: Megachilidae). *Journal of Insect Physiology* 43: 89-100.

Dobson H & Bergström G (2000). The ecology and evolution of pollen odors. *Plant Systematics and Evolution* 222: 63-87.

Faegri K & Iversen J (1989). *Textbook of pollen analysis*. Fourth edition. John Wiley & Sons, New York. 328 pp.

Flores-Prado L & Niemeyer HM (2012). Host location by ichneumonid parasitoids is associated with nest dimensions of the host bee species. *Neotropical Entomology* 41: 283-287.

Flores-Prado L, Chiappa E & Niemeyer HM (2008). Nesting biology, life cycle, and interactions between females of *Manuelia postica*, a solitary species of the Xylocopinae (Hymenoptera: Apidae). *New Zealand Journal of Zoology* 35: 93-102.

Flores-Prado L, Pinto C, Rojas A & Fontúrbel F (2014). Strong selection on mandible and nest features in a carpenter bee that nest in two sympatric host plants. *Ecology and Evolution* 4: 1820-1827.

Fox CW & Czesak ME (2000). Evolutionary ecology of progeny size in arthropods. *Annual Review of Entomology* 45: 341-369.

Freitas BM & Paxton RJ (1998). A comparison of two pollinators: the introduced honey bee *Apis mellifera* and an indigenous bee *Centris tarsata* on cashew *Anacardium occidentale* in its native range of NE Brazil. *Journal of Applied Ecology* 35: 109-121.

Frohlich DR & Parker FD (1983). Nest building behavior and development of the sunflower leafcutter bee: *Eumegachile (Sayapis) pugnata* (Say) (Hymenoptera: Megachilidae). *Psyche* 90: 93-209.

Gadgil M & Bossert WH (1970). Life historical consequences of natural selection. *American Naturalist* 104: 1-24.

Giovanetti M & Lasso E (2005). Body size, loading capacity and rate of reproduction in the communal bee *Andrena agilissima* (Hymenoptera; Andrenidae). *Apidologie* 36: 439-447.

Gosling W, Mayle F, Killeen T, Siles M, Sanchez L & Boreham S (2003). A simple and effective methodology for sampling modern pollen rain in tropical environments. *The Holocene* 13: 613-618.

Greenleaf S & Williams N (2007). Bee foraging ranges and their relationship to body size. *Oecologia* 153: 589-596.

Hanley ME, Franco M, Pichon S, Darvill B & Goulston D (2008). Breeding system, pollinator choice and variation in pollen quality in British herbaceous plants. *Functional Ecology* 22: 592-598.

Hesse M, Halbritter H, Zetter R, Weber M, Buchner R, Frosch-Radivo A & Ulrich S (2009). *Pollen terminology an illustrated handbook*. Springer Wien New York, 264 pp.

Heusser A (1971). *Pollen and spores of Chile. Modern types of the Pteridophita, Gymnospermae and Angiospermae*. The University of Arizona Press. 167 pp.

Jones D & Bryant V (1998). Are all counts created equal? En: Bryant, V.M & Wrenn J.H. (eds), *New Developments in palynomorph sampling, extraction and analysis*; American Association of Stratigraphic Palynologist Foundation, contribution series number 33, pp. 115-120.

Keller I, Peter F & Impdorf A (2005). Pollen nutrition and colony development in honey bees: part I. *Bee World* 81: 3-10.

Klein AM, Steffan-Dewenter I & Tscharntke T (2003). Fruit set of highland coffee increases with the diversity of pollinating bees. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 270: 955-961.

Luebert F & Pliscoff P (2006). *Sinopsis Bioclimática y Vegetacional de Chile*. Editorial Universitaria. 316 pp.

Manson J & Thomson J (2009). Post-ingestive effects of nectar alkaloids depend on dominance status of bumblebees. *Ecological Entomology* 34: 421-426.

Michener CD (2007). *The Bees of the World*. John Hopkins University Press, Baltimore, 953 pp.

Montenegro G (2012). *Polen apícola chileno: Diferenciación y usos según sus propiedades y origen floral*. Editorial Pontificia Universidad Católica de Chile, 161 pp.

Montenegro G, Pizarro R, Mejías E & Rodríguez S (2012). Evaluación biológica de polen apícola de plantas nativas de Chile. *Fyton* 82: 7-14.

Nicolson SW, Thornburg RW (2007). Nectar chemistry. *Nectaries and nectar*. 215-264 pp.

Okwu DE & Ndu CU (2006). Evaluation of the phytonutrients, mineral and vitamin contents of some varieties of Yam (*Dioscorea sp*). *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences* 2: 199-203

Paoli P, Donley D, Stabler D, Saseendranath S, Nicholson S, Simpson S & Wright G (2014). Nutritional balance of essential amino acids and carbohydrates of the adult worker honeybee depends on age. *Amino Acids* 46: 1449-1458.

Páez MM, Villagrán C, Stutz S, Hinojosa F & Villa R (1997). Vegetation and pollen dispersal in the subtropical-temperate climatic transition of Chile and Argentina. *Review of Palaeobotany and Palynology* 96: 169-181.

Pernal S & Currie R (2000) Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* 31: 387-409.

Peterson JH & Roitberg B (2006). Impacts of flight distance on sex ratio and resource allocation to offspring in the leafcutter bee, *Megachile rotundata*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 59: 589-596.

Ramalho M Kleinert-Giovannini A & Imperatriz-Fonseca VL (1989). Utilization of floral resources by species of *Melipona* (Apidae, Meliponinae): floral preferences. *Apidologie* 20: 185-195.

Robertson A, Mountjoy C, Faulkner B, Roberts M & Macnair M (1999). Bumble bee selection of *Mimulus guttatus* flowers: the effects of pollen quality and reward depletion. *Ecology* 80: 2594-2606.

Roulston T & Cane J (2000). Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Systematics and Evolution* 222: 187-209.

Roulston T, Cane J & Buchman S (2000). What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen-pistil interactions, or phylogeny? *Ecological Monographs* 70: 617-643.

Roulston T & Cane J (2002). The effect of pollen protein concentration on body size in the sweat bee *Lasioglossum zephyrum* (Hymenoptera: Apiformes). *Evolutionary Ecology* 16: 49-65.

Schmidt JO & Buchman SL (1985). Pollen digestion and nitrogen utilization by *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). *Comparative Biochemistry and Physiology* 82: 499-503.

Sedivy C, Piskorski R, Muller A & Dorn S (2012). Too low to kill: concentration of the secondary metabolite ranunculin in buttercup pollen does not affect bee larval survival. *Journal of Chemical Ecology* 38: 996-1002.

Seko T & Nakasuji F (2006). Adaptive significance of egg size plasticity in response to temperature in the migrant skipper, *Parnara guttata* (Lepidoptera: Hesperidae). *Population Ecology* 48: 159-166.

Slogget J & Lorenz M (2008). Egg composition and reproductive investment in aphidophagous ladybird beetles (Coccinellidae:Coccinellini): egg development and interspecific variation. *Physiological Entomology* 33: 200-208.

Somerville D (2000). Honey bee nutrition and supplementary feeding. NSW Agriculture, 8 pp

Srivastava S, Srivastava M, Misra A, Pandey G & Rawat A (2015). A review on biological and chemical diversity in *Berberis* (Berberidaceae). *Experimental and Clinical Science Journal* 14: 247-267.

Stabler D Paoli P, Nicolson S & Wright S (2015). Nutrient balancing of the adult worker bumblebee (*Bombus terrestris*) depends on the dietary source of essential amino acids. *Journal of Experimental Biology* 218: 793-802.

Stockmar J (1972). Tablets with spores used in absolute pollen analysis. *Pollen et Spores* 13: 615-621.

Stoscheck C (1990). Increased uniformity in the response of the coomassie blue G protein assay to different proteins. *Analytical Biochemistry* 184: 111-116.

Tasei JN & 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: 397-409.

Trivers RL (1972). Parental investment and sexual selection. In: *Sexual Selection and the Descent of Man* (Ed. by B. Campbell), pp. 136–179. Chicago: Aldine.

Vanderplanck M, Leroy B, Wathelet B, Wattiez R & Michez D (2014). Standardized protocol to evaluate pollen polypeptides as bee food source. *Apidologie* 45:192-204.

Watmough RH (1983). Mortality, sex ratio and fecundity in natural populations of large carpenter bees (*Xylocopa* spp.). *Journal of Animal Ecology* 52: 111-125.

Wcislo WT & Cane JH (1996). Floral resource utilization by solitary bees (Hymenoptera: Apoidea) and exploitation of their stored foods by natural enemies. *Annual Review of Entomology* 41: 257-286.

Weiner N, Hilpert A, Werner M, Linsenmair K & Blüthgen N (2010). Pollen amino acids and flower specialization in solitary bees. *Apidologie* 41: 476-487.

Wightman J & Rogers M (1978). Growth, energy and nitrogen budgets and efficiencies of the growing larvae of *Megachile pacifica* (Panzer) (Hymenoptera: Megachilidae) *Oecologia* 36: 245-257.

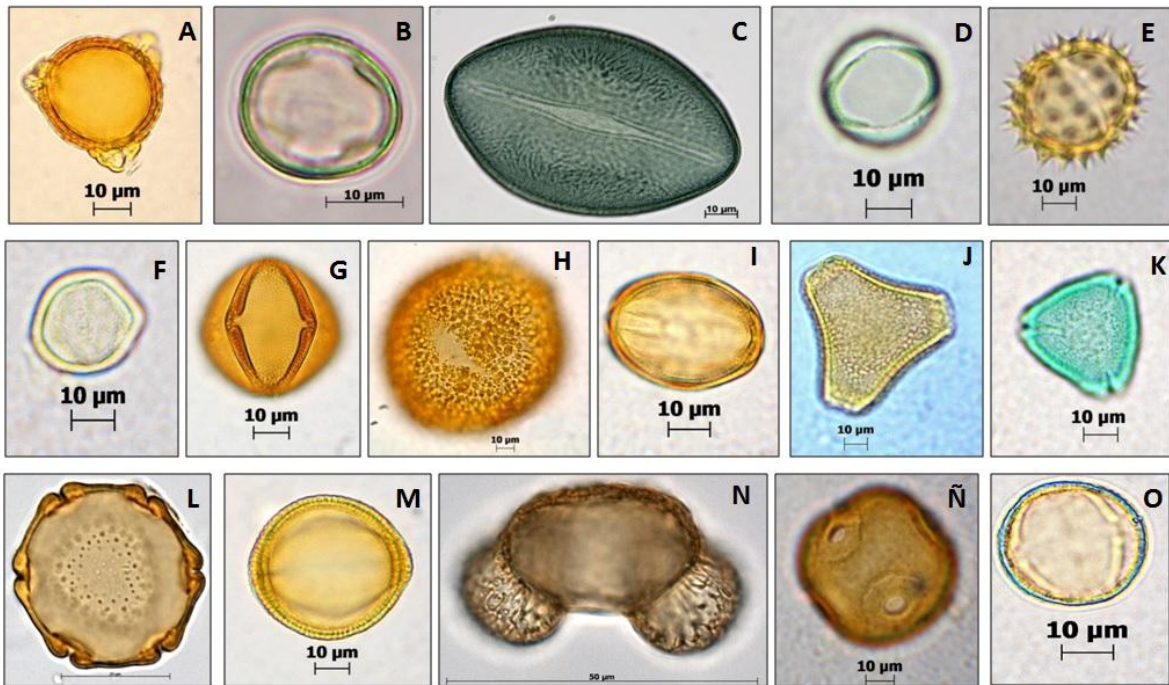
Williams NM & Kremen C (2007). Resource distributions among habitats determine solitary bee offspring production in a mosaic landscape. *Ecological Applications* 17: 910-921.

Zurbuchen A, Landert L, Klaiber J, Müller A, Hein A & Dorn S (2010). Maximum foraging ranges in solitary bees: only few individuals have the capability to cover long foraging distances. *Biological Conservation* 143: 669-676.

ANEXOS

ANEXO 1.

Tipos polínicos presentes en las masas de alimento construidas por *M. postica*



A. *Acaena* sp., **B.** *Adesmia aegiceras*, **C.** *Alstroemeria* sp., **D.** *Aristotelia chilensis*,
E. *Baccharis linearis*., **F.** *Calceolaria* sp., **G.** *Colliguaja* sp., **H.** *Geranium*
berteroanum., **I.** *Loasa* sp., **J.** *Lomatia* sp., **K.** *Luma* sp., **L.** *Nothofagus* tipo
dombeyi, **M.** *Oxalis* sp., **N.** *Podocarpus* sp., **Ñ.** *Ribes punctatum*, **O.** *Rumex* sp.

Barra escala corresponde a 10 µm.

ANEXO 2

Tabla 1. Observaciones realizadas en distintos estados relacionados con la construcción y el aprovisionamiento de nidos de *M. postica*. (Flores-Prado et al., 2008).

Main stage	Observation	2005								2006									
		Oct 15-16	Nov 16-17	Nov 26-27	Dec 1-3	Dec 6-8	Dec 13-15	Dec 20-22	Dec 27-30	Jan 3-6	Jan 10-13	Jan 17-20	Jan 24-27	Feb 6-10	Feb 14-17	Mar 1-3	Mar 27-29	Apr 7-10	Apr 28-30
Nests under construction	Opening of nest entrance	6	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tunnel lengthening	3	6	2	2	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Construction of food mass	0	1	6	6	13	8	4	2	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Nests with the given no. of F_0 adults present	One female	0	10	14	14	17	17	22	13	19	15	21	20	14	0	0	0	0	0
	Two females	0	4	5	3	1	1	2	1	1	1	1	1	2	0	0	0	0	0
	Three females	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	One male	0	0	1	0	0	1	1	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Two males	0	0	0	0	0	2	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Nests without F_0 individuals	Three males	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	10	5	8	6	3	0	9	3	8	1	4	9	0	0	0	0	0
Nests with hibernating F_0 assemblages		16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
No. of adults found in nests with F_0 assemblages	Females	35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Males	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nests with hibernating F_1 assemblages		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	7	11	15	25
Nests with F_1 individuals developing inside cells		0	16	23	23	22	23	24	25	25	25	25	25	25	22	18	14	10	0
No. of adults found in nests with F_1 hibernating assemblages	Females	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	17	29	49	63
	Males	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	12	8	6	38

Tabla 2. Listado total de especies vegetales presentes en las tres zonas de nidificación, su categoría de distribución y su período de floración.

Especie	Familia	Categoría	Período de Floración
<i>Acaena argentea</i>	Rosaceae	Nativa	Septiembre-Diciembre
<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	Fabaceae	Endémica	Septiembre-Febrero
<i>Alstroemeria presiliana</i>	Alstroemeriaceae	Nativa	Septiembre-Febrero
<i>Anthriscus caucalis</i>	Apiaceae	Introducida	Septiembre-Febrero
<i>Aristotelia chilensis</i>	Elaeocarpaceae	Nativa	Septiembre-Diciembre
<i>Austrocedrus chilensis</i>	Cupressaceae	Nativa	Septiembre-Diciembre
<i>Azara serrata</i>	Flacourtiaceae	Endémica	Septiembre-Diciembre
<i>Baccharis linearis</i>	Asteraceae	Nativa	Enero-Abril
<i>Baccharis rhomboidalis</i>	Asteraceae	Nativa	Julio-Noviembre
<i>Berberis actinacantha</i>	Berberidaceae	Nativa	Septiembre-Diciembre
<i>Calceolaria arachnoidea</i>	Calceolariaceae	Endémica	Septiembre-Febrero
<i>Chusquea culeou</i>	Poaceae	Nativa	Septiembre-Diciembre
<i>Colliguaja intergerrima</i>	Euphorbiaceae	Nativa	Agosto-Noviembre
<i>Colletia ulcinia</i>	Rhamnaceae	Endémica	Diciembre-Abril
<i>Dioscorea sp.</i>	Dioscoreaceae	Nativa	Septiembre-Diciembre
<i>Dioscorea humifusa</i>	Dioscoreaceae	Endémica	Septiembre-Diciembre
<i>Dioscorea brachybotrya</i>	Dioscoreaceae	Nativa	Septiembre-Diciembre
<i>Elytropus chilensis</i>	Apocynaceae	Nativa	Septiembre-Diciembre
<i>Escallonia pulverulenta</i>	Escalloniaceae	Endémica	Noviembre-Febrero
<i>Gaultheria pumilia</i>	Ericaceae	Nativa	Septiembre-Febrero
<i>Geranium berteroanum</i>	Geraniaceae	Nativa	Octubre-Abril
<i>Lathyrus multiceps</i>	Fabaceae	Endémica	Septiembre-Febrero

<i>Loasa acerifolia</i>	Loasaceae	Nativa	Septiembre-Febrero
<i>Lomatia dentata</i>	Proteaceae	Nativa	Diciembre-Febrero
<i>Luma apiculata</i>	Myrtaceae	Nativa	Septiembre-Febrero
<i>Maihuenia poeppigii</i>	Cactaceae	Nativa	Noviembre-Enero
<i>Melilotus</i> sp.	Fabaceae	Introducida	Septiembre-Diciembre
<i>Myrceugenia</i> sp.	Myrtaceae	Nativa	Septiembre-Febrero
<i>Nothofagus dombeyi</i>	Nothofagaceae	Nativa	Septiembre-Diciembre
<i>Oxalis carnosa</i>	Oxalidaceae	Nativa	Septiembre-Febrero
<i>Podocarpus salignus</i>	Podocarpaceae	Nativa	Septiembre-Febrero
<i>Puya coreulea</i>	Bromeliaceae	Nativa	Septiembre-Febrero
<i>Ribes punctatum</i>	Grossulariaceae	Nativa	Septiembre-Diciembre
<i>Rosa rubiginosa</i>	Rosaceae	Introducida	Noviembre-Marzo
<i>Rumex acetosella</i>	Polygonaceae	Introducida	Septiembre-Diciembre
<i>Sophora macrocarpa</i>	Fabaceae	Endémica	Noviembre-Enero
<i>Taraxacum officinalis</i>	Asteraceae	Introducida	Noviembre-Marzo

Tabla 3. Frecuencias relativas de individuos de las especies vegetales presentes en las zonas de nidificación (A, B y C) en los distintos períodos de observación.

Fecha de recolección	Frecuencia relativa de individuos (%)									
	22 de noviembre			8 de diciembre			22 de diciembre			
	Zona de nidificación	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Especies										
<i>Acaena argentea</i>	0	3,13	1,90	0	11,17	1,70	0	1,97	5,71	
<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,42	6,08	4,04	1,24	2,43	3,16	1,35	0,25	0	
<i>Alstroemeria presiliana</i>	9,64	14,73	12,83	3,23	5,58	11,44	8,89	4,68	10,33	
<i>Anthriscus caucalis</i>	6,71	0	1,90	7,96	0	1,70	10,24	0	1,63	
<i>Aristolelia chilensis</i>	6,92	4,05	0,95	4,48	4,37	0,97	5,39	2,96	1,63	
<i>Austrocedrus chilensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	1,23	0	
<i>Azara serrata</i>	0	1,10	0	0	1,46	0	0	2,22	1,90	
<i>Baccharis linearis</i>	0	0	2,14	0	0	0,97	0	0	1,63	
<i>Baccharis rhomboidalis</i>	0	1,66	0,71	0	1,94	1,95	0	1,97	2,99	
<i>Berberis actinacantha</i>	11,11	0	2,14	10,20	0	2,43	8,89	2,71	3,80	
<i>Calceolaria arachnoidea</i>	4,82	0	3,56	1,74	0	2,43	1,08	1,97	0	
<i>Chusquea culeou</i>	1,26	4,05	18,05	1,49	6,07	16,06	2,70	5,42	23,10	
<i>Colletia ulcinia</i>	0	0	0	0	0	0	0	1,48	0	
<i>Colliguaja intergerrima</i>	0	4,05	5,94	0	5,34	6,57	0	7,14	0	
<i>Dioscorea brachybotrya</i>	2,94	1,10	2,61	8,96	2,43	4,38	2,43	5,17	1,63	
<i>Dioscorea humifusa</i>	0,84	0	0	1,99	0	0	0	0	0	
<i>Dioscorea sp.</i>	12,16	13,08	6,65	11,69	8,25	8,76	9,70	8,62	6,79	
<i>Elytropus chilensis</i>	6,92	2,03	6,41	4,48	3,40	6,81	5,12	2,71	2,72	
<i>Escallonia pulverulenta</i>	1,05	0,92	0	1,00	0,49	0	0,81	0,49	0	
<i>Gaultheria pumilia</i>	0	18,42	11,64	0	14,08	9,98	0	16,26	9,51	
<i>Geranium bertereanum</i>	1,89	2,76	0	2,99	1,21	0	1,35	0	0	
<i>Lathyrus multiceps</i>	4,61	0,74		4,73	0	0	0	0	0	
<i>Loasa acerifolia</i>	0,63	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Lomatia dentata</i>	0	0	0	0	0	0,49	0	0,74	1,09	
<i>Luma apiculata</i>	0	0,92	0	0	1,21	0	7,82	1,23	0	
<i>Maihuenia poeppigii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0,49	0	
<i>Melilotus sp.</i>	0	1,84	2,14	0	0	0	0	0,99	0	
<i>Myrceugenia sp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1,36	
<i>Nothofagus dombeyi</i>	9,85	9,39	5,46	10,20	11,89	5,60	11,59	12,07	9,51	
<i>Oxalis carnosus</i>	0	2,39	1,19	0,75	6,55	1,22	0	3,45	0	
<i>Podocarpus salignus</i>	0	2,03	0	0	0,97	0	0	2,22	0	
<i>Puya coreulea</i>	0	0,55	0	0	0,73	0	0	0,74	0	
<i>Ribes punctatum</i>	14,68	2,03	5,46	16,67	3,40	4,87	14,02	5,42	6,52	
<i>Rosa rubiginosa</i>	2,94	0,37	0	5,47	2,91	0	7,82	5,42	1,90	
<i>Rumex acetosella</i>	0	2,58	4,28	0	4,13	8,52	0	0	5,16	

<i>Sophora macrocarpa</i>	0,63	0	0	0,75	0	0	0,81	0	0
<i>Taraxacum officinalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1,09

Tabla 4. Índice de diversidad de Shannon e índices de similitud de Jaccard.

Fecha de recolección	Zona de nidificación	Índice de Shannon (H')	Índice de Jaccard			
				A	B	C
22 de noviembre	A	2,65	A	1	0,48	0,48
	B	2,74	B	0,48	1	0,57
	C	2,64	C	0,48	0,57	1
8 de diciembre				A	B	C
	A	2,55	A	1	0,49	0,46
	B	2,82	B	0,42	1	0,53
	C	2,59	C	0,46	0,53	1
22 de diciembre				A	B	C
	A	2,66	A	1	0,48	0,54
	B	2,81	B	0,48	1	0,53
	C	2,70	C	0,54	0,53	1

Tabla 5. Resumen de las especies destacadas en las masas de alimento y su porcentaje de proteína promedio, para el período 22 de noviembre, zonas B y C.^a

Zonas de nidificación	Masa	Especies destacadas	% Presencia en la masa	% Proteico promedio de la familia
B	1	<i>Azara serrata.</i>	63,0	28
		<i>Gaultheria pumilia</i>	20,0	36
	2	<i>Gaultheria pumilia.</i>	25,5	36
		<i>Azara serrata.</i>	29,7	28
		<i>Aristotelia chilensis</i>	38,4	39
	3	<i>Azara serrata.</i>	48,1	28
		<i>Aristotelia chilensis</i>	21,6	39
	4	<i>Aristotelia chilensis</i>	73,2	39
		<i>Nothofagus tipo dombeyi</i>	21,9	35
	5	<i>Aristotelia chilensis</i>	85,7	39
		<i>Nothofagus tipo dombeyi</i>	7,7	35
	6	<i>Aristotelia chilensis</i>	79,8	39
		<i>Sophora macrocarpa.</i>	6,22	42
	7	<i>Aristotelia chilensis</i>	55,2	39
		<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	15,6	42
	9	<i>Solanum sp.</i>	30,9	41
		<i>Buddleja sp.</i>	22,7	36
		<i>Medicago sp.</i>	30,3	42
10	<i>Buddleja sp.</i>	29,9	36	
	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	19,7	42	
	<i>Galega officinalis</i>	21,0	42	
11	<i>Adesmia aff. hirsuta.</i>	27,3	42	
	<i>Galega officinalis</i>	31,9	42	
12	<i>Medicago sp.</i>	65,5	42	
	<i>Buddleja sp.</i>	20,2	36	
13	<i>Medicago sp.</i>	29,0	42	
	<i>Melilotus sp.</i>	25,0	42	
14	<i>Medicago sp.</i>	34,5	42	
	<i>Buddleja sp.</i>	25,0	36	
15	<i>Melilotus sp.</i>	51,0	42	
	<i>Galega officinalis.</i>	20,8	42	
18	<i>Adesmia aff. hirsuta.</i>	75,5	42	
	<i>Solanum sp.</i>	20,1	47	
C	16	<i>Calceolaria arachnoidea</i>	47,4	33
		<i>Azara serrata.</i>	33,3	28
	17	<i>Melilotus sp.</i>	40,2	42
		<i>Galega officinalis</i>	23,4	42

- ^a Cabe destacar que en la zona A, los nidos recolectados para el periodo 22 de noviembre sólo contenían masas de alimento en construcción, por lo tanto quedaron fuera de los análisis.

Tabla 6. Resumen de las especies destacadas en las masas de alimento y su porcentaje de proteína promedio, para el período 8 de diciembre, zonas A, B y C.

Zonas de nidificación	Masa	Especies destacadas	% Presencia en la masa	% Proteico promedio de la familia
A	19	<i>Melilotus sp.</i>	38,3	42
		<i>Galega officinalis</i>	29,9	42
	20	<i>Melilotus sp.</i>	37,2	42
		<i>Galega officinalis.</i>	29,9	42
	22	<i>Schinus polygamus</i> <i>Galega officinalis</i>	27,2 27,1	18 42
23	<i>Medicago sp.</i> <i>Galega officinalis</i>	33,2 29,1	42 42	
25	<i>Galega officinalis.</i> <i>Tristerix sp.</i>	28,8 19,7	42 32	
B	26	<i>Calceolaria arachnoidea</i>	28,4	33
		<i>Fabiana imbricata</i>	59,2	41
	27	<i>Galega officinalis</i>	51,5	42
		<i>Medicago sp.</i>	18,8	42
	28	<i>Sophora macrocarpa</i> <i>Azara serrata..</i>	50,9 27,6	42 28
29	<i>Azara serrata.</i> <i>Fabiana imbricata</i>	43,6 40,0	28 35	
30	<i>Medicago sp.</i> <i>Galega officinalis</i> <i>Tristerix sp.</i>	26,0 22,9 19,1	42 42 32	
C	24	<i>Medicago sp.</i> <i>Galega officinalis</i>	32,5 30,3	42 42

Tabla 7. Resumen de especies destacadas en las masa de alimento y su porcentaje de proteína promedio, para el período 22 de diciembre, zonas A y B. ^a

Zonas de nidificación	Masa	Especies destacadas	% Presencia en la masa	% Proteico promedio de la familia
A	45	<i>Medicago sp.</i>	32,4	42
		<i>Melilotus sp.</i>	27,0	42
B	31	<i>Loasa acerifolia.</i>	58,3	40
		<i>Otholobium sp.</i>	19,1	42
	32	<i>Nothofagus tipo dombeyi</i>	49,3	35
		<i>Tristerix sp.</i>	16,0	32
	33	<i>Azara serrata</i>	51,2	28
		<i>Nothofagus tipo dombeyi</i>	17,7	35
	34	<i>Medicago sp.</i>	30,2	42
		<i>Galega officinalis</i>	25,5	42
		<i>Azara serrata.</i>	26,0	28
	35	<i>Medicago sp.</i>	34,6	42
		<i>Azara serrata.</i>	23,9	28
		<i>Galega officinalis</i>	22,5	42
	36	<i>Medicago sp.</i>	24,7	42
		<i>Galega officinalis</i>	45,4	42
	37	<i>Medicago sp.</i>	29,1	42
		<i>Galega officinalis</i>	28,5	42
	38	<i>Galega officinalis.</i>	36,2	42
		<i>Medicago sp.</i>	22,2	42
	39	<i>Tristerix sp.</i>	30,5	32
<i>Galega officinalis</i>		22,4	42	
40	<i>Medicago sp.</i>	35,1	42	
	<i>Galega officinalis</i>	33,7	42	
41	<i>Medicago sp.</i>	39,0	42	
	<i>Galega officinalis</i>	16,2	42	
42	<i>Galega officinalis</i>	32,4	42	
	<i>Medicago sp.</i>	36,6	42	
43	<i>Azara serrata.</i>	34,2	28	
	<i>Melilotus sp.</i>	24,5	42	
44	<i>Melilotus sp.</i>	36,0	42	
	<i>Galega officinalis</i>	21,9	42	
46	<i>Medicago sp.</i>	32,4	42	
	<i>Melilotus sp.</i>	27,0	42	
47	<i>Medicago sp.</i>	20,8	42	
	<i>Azara serrata.</i>	26,5	28	

- ^a Cabe destacar que en la zona C, los nidos recolectados para el periodo 22 de diciembre sólo contenían masas de alimento en construcción, por lo tanto, quedaron fuera de los análisis.

Tabla 8. Resumen de la longitud de los nidos, el peso de las masas de alimento, la cantidad de granos promedio contados por masa y el porcentaje de proteína promedio por masa.

Fecha de recolección	Sitio	Nido	Longitud del nido (mm)	Masa	Peso de la masa (mg)	Número promedio de granos de polen	Proteína en la masa (% promedio)
22-nov	B	B1	144,2	1	45,0	1583	32,7
	B	B1	144,2	2	36,7	864	38,2
	B	B1	144,2	3	39,6	1875	34,5
	B	B1	144,2	4	27,6	5085	43,2
	B	B1	144,2	5	38,8	3815	32,4
	B	B1	144,2	6	46,4	3335	29,8
	B	B2	70,1	7	43,0	4923	29,9
	B	B3	112,3	9	31,3	1254	38,9
	B	B3	112,3	10	43,4	4354	33,4
	B	B4	148,5	11	32,7	3917	39,8
	B	B4	148,5	12	49,1	5311	18,8
	B	B5	55,6	13	52,5	1696	31,4
	B	B6	99,8	14	44,2	1807	33,9
	B	B7	118,7	15	38,9	2446	24,4
	C	C1	91,4	16	30,8	2062	41,9
	C	C2	107,1	17	35,8	1794	40,0
	B	B8	78,3	18	32,0	2231	43,2
	08-dic	A	A1	121,8	19	26,6	2981
A		A1	121,8	20	32,0	2685	44,5
A		A2	252,8	22	41,0	2997	39,7
A		A2	252,8	23	40,7	2166	35,3
C		C3	-	24	36,4	2852	41,4
A		A3	64,7	25	43,1	3221	32,1
B		B9	108,5	26	51,5	1735	36,4
B		B10	-	27	52,7	3181	33,3
B		B11	61,4	28	40,1	1807	36,8
B		B11	61,4	29	44,3	2842	38,8
B		B12	59,9	30	34,3	1636	40,7

22-dic	B	B13	66,7	31	34,3	1380	36,5
	B	B14	87,8	32	31,2	912	39,2
	B	B14	87,8	33	37,6	1019	38,0
	B	B15	73,3	34	32,7	1056	39,3
	B	B16	100,3	35	41,0	1308	45,5
	B	B17	114,6	36	60,7	3291	31,4
	B	B18	135,9	37	56,0	1325	29,0
	B	B18	135,9	38	51,4	2765	48,8
	B	B19	106,5	39	31,9	1758	42,7
	B	B20	123,4	40	35,9	2153	38,6
	B	B20	123,4	41	34,6	1109	37,6
	B	B21	71,8	42	51,9	2315	33,6
	B	B22	110,4	43	33,7	1209	38,4
	B	B22	110,4	44	40,1	2003	34,6
	A	A4	111,5	45	37,9	1427	34,8
	B	B23	82,5	46	45,8	2332	33,6
	B	B24	110,5	47	52,5	1434	35,1

Tabla 9. Selección del recurso sobre la base del Índice de Savage para el período 22 de Noviembre, zona B. D_i = disponibilidad del recurso, U_i = uso del recurso en la dieta. En negrita los resultados significativos tras la prueba de Chi cuadrado ($\chi^2 = 3,8415$; $p = 0,05$).

	Especie vegetal	D_i	U_i	Índice de Savage (W_i)	Parámetro estadístico	Selección
Masa #1	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,061	0,111	1,826	68,05	selecciona
	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,041	0,011	0,270	35,60	rechaza
	<i>Azara serrata</i>	0,011	0,640	57,882	57227,66	selecciona
	<i>Chusquea culeou</i>	0,041	0,016	0,390	24,90	rechaza
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,184	0,205	1,116	4,79	selecciona
Masa #2	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,061	0,052	0,857	1,15	rechaza
	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,041	0,384	9,471	2618,02	selecciona
	<i>Azara serrata</i>	0,011	0,297	26,874	6462,90	selecciona
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,184	0,255	1,382	28,48	selecciona
Masa #3	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,041	0,211	5,199	1395,78	selecciona
	<i>Azara serrata</i>	0,011	0,481	43,545	37920,40	selecciona
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,184	0,046	0,249	238,71	rechaza
	<i>Elytropus chilensis</i>	0,020	0,006	0,2983	19,087	rechaza
	<i>Luma apiculata</i>	0,009	0,123	13,377	2669,50	selecciona
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,094	0,001	0,008	191,43	rechaza
Masa #4	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,061	0,015	0,249	185,45	rechaza
	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,041	0,733	18,096	62747,50	selecciona
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,094	0,219	2,333	936,93	selecciona
Masa #5	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,041	0,857	21,154	65433,75	selecciona
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,184	0,064	0,346	2001,06	rechaza
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,094	0,077	0,816	13,15	rechaza
Masa #6	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,041	0,798	19,701	49233,35	Selecciona
	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,061	0,009	0,141	159,01	rechaza
	<i>Escallonia pulverulenta</i>	0,009	0,000	0,054	27,71	rechaza
	<i>Elytropus chilensis</i>	0,020	0,0009	0,049	62,30	rechaza
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,184	0,093	0,504	184,97	rechaza
Masa #7	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,041	0,552	13,627	33144,21	selecciona
	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,061	0,156	2,566	781,03	selecciona
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,184	0,040	0,218	678,90	rechaza
	<i>Podocarpus salignus</i>	0,020	0,040	0,007	100,43	rechaza
Masa #9	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,041	0,062	1,541	15,52	selecciona
	<i>Geranium bertereanum</i>	0,028	0,010	0,346	15,22	rechaza
	<i>Melilotus sp.</i>	0,018	0,028	1,501	5,90	selecciona
	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,061	0,197	3,229	1154,03	selecciona

Masa #10	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,041	0,050	5,030	8,70	selecciona
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,184	0,122	0,664	89,93	rechaza
	<i>Geranium berteroanum</i>	0,028	0,012	0,448	30,62	rechaza
Masa #11	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,061	0,273	4,485	3078,23	selecciona
	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,041	0,080	1,994	163,20	selecciona
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,184	0,0007	0,004	876,64	rechaza
Masa #12	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,094	0,0005	0,005	401,52	rechaza
	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,041	0,011	0,265	121,16	rechaza
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,184	0,051	0,275	630,55	rechaza
	<i>Melilotus sp.</i>	0,018	0,032	1,725	52,30	selecciona
Masa #13	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,094	0,0001	0,001	548,96	rechaza
	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,061	0,010	0,165	76,48	rechaza
	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,041	0,125	3,096	314,30	selecciona
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,184	0,109	0,590	64,23	rechaza
	<i>Melilotus sp.</i>	0,018	0,250	13,556	5013,80	selecciona
Masa #14	<i>Rosa rubiginosa</i>	0,004	0,002	0,534	1,27	rechaza
	<i>Chusquea culeou</i>	0,041	0,029	0,724	5,09	rechaza
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,184	0,044	0,236	208,34	rechaza
	<i>Melilotus sp.</i>	0,018	0,237	12,874	4187,23	selecciona
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,094	0,016	0,169	113,33	rechaza
Masa #15	<i>Podocarpus salignus</i>	0,020	0,001	0,027	30,97	rechaza
	<i>Melilotus sp.</i>	0,018	0,510	27,679	32663,96	selecciona
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,094	0,104	1,103	2,67	selecciona
Masa #18	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,061	0,755	12,422	18057,66	selecciona
	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,041	0,036	0,881	1,29	rechaza

Tabla 10. Selección del recurso sobre la base del Índice de Savage para el período 22 de Noviembre, zona C. U_i = uso del recurso en la dieta; D_i = disponibilidad del recurso. En negrita los resultados significativos tras la prueba de Chi cuadrado ($\chi^2 = 3,8415$; $p = 0,05$).

	Especie vegetal	Di	Ui	Índice de	Parámetro estadístico	Selección
				Savage (Wi)		
Masa #16	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,0404	0,0962	2,3816	165,625	selecciona
	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,0095	0,0016	0,1701	13,622	rechaza
	<i>Calceolaria arachnoidea</i>	0,0356	0,4736	13,2916	11509,940	selecciona
Masa #17	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,0404	0,0275	0,6809	7,688	rechaza
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,1164	0,0498	0,4278	77,382	rechaza
	<i>Melilotus sp.</i>	0,0214	0,4016	18,7876	12399,426	selecciona
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,0546	0,0046	0,0850	86,796	rechaza

Tabla 11. Selección del recurso sobre la base del Índice de Savage para el período 8 de Diciembre, zona A. U_i = uso del recurso en la dieta; D_i = disponibilidad del recurso. En negrita los resultados significativos tras Chi cuadrado ($\chi^2 = 3,8415$; $p = 0,05$).

	Especie vegetal	Di	Ui	Índice de	Parámetro estadístico	Selección
				Savage (Wi)		
Masa #19	<i>Ribes punctatum</i>	0,167	0,058	0,346	254,738	rechaza
Masa #20	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,012	0,030	2,446	41,672	selecciona
	<i>Dioscorea sp.</i>	0,226	0,001	0,006	458,126	rechaza
	<i>Ribes punctatum</i>	0,167	0,005	0,0028	976,686	rechaza
Masa #22	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,012	0,001	0,107	30,069	rechaza
	<i>Chusquea culeou</i>	0,015	0,001	0,037	42,074	rechaza
	<i>Escallonia pulverulenta</i>	0,010	0,003	0,32	13,752	rechaza
	<i>Geranium bertereanum</i>	0,030	0,007	0,238	53,458	rechaza

Masa #23	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,012	0,001	0,037	70,655	rechaza
	<i>Geranium bertereanum</i>	0,030	0,013	0,438	776,759	rechaza
	<i>Lathyrus multiceps</i>	0,047	0,0625	1,3222	1655,986	selecciona
Masa #25	<i>Ribes punctatum</i>	0,167	0,001	0,006	636,226	rechaza
	<i>Sophora macrocarpa</i>	0,008	0,089	11,980	2919,808	selecciona

Tabla 12. Selección del recurso sobre la base del Índice de Savage para el período 8 de Diciembre, zona B. U_i = uso del recurso en la dieta; D_i = disponibilidad del recurso. En negrita los resultados significativos tras la prueba de Chi cuadrado ($\chi^2 = 3,8415$; $p = 0,05$).

	Especie vegetal	D_i	U_i	Índice de	Parámetro estadístico	Selección
				Savage (W_i)		
Masa #26	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,024	0,007	0,301	21,0848	rechaza
	<i>Azara serrata</i>	0,015	0,014	0,924	0,1494	rechazo
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,141	0,040	0,283	146,2351	rechaza
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,119	0,042	0,352	98,2170	rechaza
Masa #27	<i>Azara serrata</i>	0,015	0,011	0,734	3,3247	rechaza
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,141	0,133	0,942	1,7699	rechaza
	<i>Podocarpus sp.</i>	0,010	0,0002	0,022	29,8449	rechaza
Masa #28	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,024	0,085	3,497	280,0381	selecciona
	<i>Azara serrata</i>	0,015	0,276	18,938	8588,2349	selecciona
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,141	0,002	0,013	288,3798	rechaza
	<i>Podocarpus sp.</i>	0,010	0,0007	0,076	15,1164	rechaza
Masa #29	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,024	0,122	5,040	1153,5802	selecciona
	<i>Azara serrata</i>	0,015	0,436	29,965	35235,9673	selecciona
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,141	0,004	0,028	439,6347	rechaza
Masa #30	<i>Dioscorea sp.</i>	0,107	0,119	1,116	2,6445	selecciona
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,119	0,035	0,291	110,8504	rechaza

Tabla 13. Selección del recurso sobre la base del Índice de Savage para el período 8 de Diciembre, zona C. U_i = uso del recurso en la dieta; D_i = disponibilidad del recurso. En negrita los resultados significativos tras la prueba de Chi cuadrado ($\chi^2 = 3,8415$; $p = 0,05$).

	Especie vegetal	Di	Ui	Índice de	Parámetro estadístico	Selección
				Savage (Wi)		
Masa #24	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,032	0,047	1,493	12,5671	selecciona
	<i>Lomatia dentata</i>	0,005	0,005	1,081	0,0507	selecciona
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,056	0,007	0,029	88,4297	rechaza
	<i>Ribes punctatum</i>	0,049	0,002	0,038	74,8674	rechaza

Tabla 14. Selección del recurso sobre la base del Índice de Savage para el período 22 de Diciembre, zona A. En negrita los resultados significativos tras Chi cuadrado ($\chi^2 = 3,8415$; $p = 0,05$).

	Especie vegetal	Di	Ui	Índice de	Parámetro estadístico	Selección
				Savage (Wi)		
Masa #45	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,054	0,003	0,061	71,747	rechaza
	<i>Escallonia pulverulenta</i>	0,0081	0,049	6,152	308,728	selecciona
	<i>Ribes punctatum</i>	0,140	0,032	0,228	138,538	rechaza

Tabla 15. Selección del recurso sobre la base del Índice de Savage para el período 22 de Diciembre, zona B. En negrita los resultados significativos tras la prueba de Chi cuadrado ($\chi^2 = 3,8415$; $p = 0,05$).

	Especie vegetal	Di	Ui	Índice de	Parámetro estadístico	Selección
				Savage (Wi)		
Masa #31	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,002	0,001	0,005	446,569	rechaza
	<i>Melilotus sp.</i>	0,009	0,047	0,048	83456,569	rechaza
Masa #32	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,002	0,023	9,345	156,827	selecciona
	<i>Melilotus sp.</i>	0,010	0,022	2,225	1361,903	selecciona
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,121	0,493	4,081	118808,912	selecciona
Masa #33	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,002	0,085	34,675	2850,370	selecciona
	<i>Azara serrata</i>	0,022	0,512	23,116	1128839,692	selecciona
	<i>Dioscorea sp.</i>	0,138	0,002	0,017	157,515	rechaza
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,121	0,177	1,470	30,803	selecciona
Masa # 34	<i>Azara serrata</i>	0,022	0,260	11,719	2750,687	selecciona
	<i>Dioscorea sp.</i>	0,138	0,063	0,460	49,270	rechaza
	<i>Melilotus sp.</i>	0,099	0,0578	5,863	248,505	selecciona
Masa #35	<i>Azara serrata</i>	0,022	0,239	10,775	2287,294	selecciona
	<i>Dioscorea sp.</i>	0,138	0,001	0,007	166,471	rechaza
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,163	0,071	0,436	65,224	rechaza
	<i>Lomatia dentata</i>	0,007	0,001	0,069	6,814	rechaza
	<i>Melilotus sp.</i>	0,010	0,098	9,909	834,052	selecciona
Masa #36	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,002	0,131	53,341	22193,952	selecciona
	<i>Chusquea culeou</i>	0,054	0,000	0,007	185,173	rechaza
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,163	0,034	0,206	401,267	selecciona
	<i>Lomatia dentata</i>	0,007	0,000	0,027	23,103	rechaza
	<i>Melilotus sp.</i>	0,010	0,082	8,359	1767,955	selecciona
	<i>Nothofagus tipo dombeyi</i>	0,121	0,001	0,006	445,057	rechaza
Masa #37	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,002	0,051	20,83	1286,618	selecciona
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,163	0,078	0,48	69,237	rechaza
	<i>Melilotus sp.</i>	0,010	0,852	8,65	772,382	selecciona
	<i>Nothofagus tipo dombeyi</i>	0,121	0,019	0,158	128,818	rechaza
Masa #38	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,002	0,024	9,838	533,268	selecciona
	<i>Azara serrata</i>	0,022	0,076	3,410	364,020	selecciona
	<i>Chusquea culeou</i>	0,054	0,015	0,276	83,065	rechaza
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,163	0,043	0,265	290,156	rechaza
	<i>Melilotus sp.</i>	0,010	0,149	15,149	5507,459	selecciona
	<i>Nothofagus tipo dombeyi</i>	0,121	0,000	0,004	376,483	rechaza

Masa #39	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,002	0,002	1,001	0,0000039	selecciona
	<i>Azara serrata</i>	0,022	0,172	7,777	1829,141	selecciona
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,163	0,176	1,084	2,394	selecciona
	<i>Melilotus sp.</i>	0,010	0,092	9,336	1214,778	selecciona
Masa #40	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,002	0,061	24,951	3049,496	selecciona
	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,030	0,006	0,194	42,622	rechaza
	<i>Azara serrata</i>	0,022	0,001	0,049	44,153	rechaza
	<i>Escallonia pulverulenta</i>	0,005	0,005	1,100	0,106	selecciona
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,163	0,003	0,018	402,949	rechaza
	<i>Lomatia dentata</i>	0,007	0,007	0,901	0,158	rechaza
	<i>Melilotus sp.</i>	0,010	0,115	11,658	2433,653	selecciona
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,121	0,002	0,018	284,992	rechaza
Masa #41	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,030	0,024	0,803	1,309	rechazo
	<i>Azara serrata</i>	0,022	0,099	4,446	298,556	selecciona
	<i>Escallonia pulverulenta</i>	0,005	0,016	3,233	27,372	selecciona
	<i>Melilotus sp.</i>	0,010	0,151	15,310	2259,794	selecciona
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,121	0,048	0,398	55,099	rechaza
Masa #42	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,002	0,032	12,801	796,004	selecciona
	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,030	0,001	0,039	65,120	rechaza
	<i>Escallonia pulverulenta</i>	0,005	0,010	2,017	11,843	selecciona
	<i>Lomatia dentata</i>	0,007	0,001	0,117	13,440	rechaza
	<i>Melilotus sp.</i>	0,010	0,233	23,687	11856,265	selecciona
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,121	0,001	0,005	314,720	rechaza
Masa #43	<i>Azara serrata</i>	0,022	0,342	15,447	0,191	selecciona
	<i>Escallonia pulverulenta</i>	0,005	0,020	3,974	0,409	selecciona
	<i>Lomatia dentata</i>	0,007	0,028	3,731	0,333	selección
	<i>Melilotus sp.</i>	0,010	0,245	24,906	0,288	selecciona
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,121	0,031	0,256	0,078	rechaza
Masa #44	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,002	0,114	46,155	10078,984	selecciona
	<i>Azara serrata</i>	0,022	0,064	2,898	163,545	selecciona
	<i>Escallonia pulverulenta</i>	0,005	0,028	5,676	216,741	selecciona
	<i>Melilotus sp.</i>	0,010	0,360	36,491	25092,442	selecciona
Masa #46	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,002	0,061	24,951	3303,009	selecciona
	<i>Azara serrata</i>	0,022	0,096	4,339	589,394	selecciona
	<i>Escallonia pulverulenta</i>	0,005	0,041	8,327	619,696	selecciona
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,163	0,001	0,009	444,758	rechaza
	<i>Melilotus sp.</i>	0,010	0,040	4,047	215,464	selecciona
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	0,121	0,003	0,025	304,357	rechaza
Masa #47	<i>Adesmia aff. hirsuta</i>	0,002	0,310	125,925	55219,289	selecciona
	<i>Aristotelia chilensis</i>	0,030	0,004	0,142	32,160	rechaza
	<i>Azara serrata</i>	0,022	0,165	7,426	1341,412	selecciona
	<i>Escallonia pulverulenta</i>	0,005	0,032	6,513	215,640	selecciona
	<i>Gaultheria pumilia</i>	0,163	0,095	0,582	48,577	rechaza

	<i>Lomatia dentata</i>	0,007	0,018	2,454	22,562	selecciona
	<i>Melilotus sp.</i>	0,010	0,064	6,490	429,723	selecciona
	<i>Ribes punctatum</i>	0,054	0,001	0,013	79,999	rechaza