

Germinación de *Eryngium regnellii*: especie clave para la restauración ecológica de las interacciones planta-polinizador en la Pampa Austral (Buenos Aires, Argentina)

Germination of *Eryngium regnellii*: a major species for ecological restoration of plant-pollinator interactions in the Southern Pampas (Buenos Aires, Argentina)

Sabatino M^{1,2}, AE Rovere¹, N Maceira²

Resumen. *Eryngium regnellii* Malme pertenece al género más amplio dentro de la familia Apiaceae, con 250 especies en todo el mundo y 65 representadas en América del Sur. Es una especie herbácea típica de las comunidades vegetales serranas, que junto con los remanentes de pastizales, constituyen los hábitats naturales más relevantes para el sostenimiento de la diversidad en la Pampa Austral. *Eryngium regnellii* es clave para el mantenimiento del mutualismo de polinización, por ser una especie generalista (exhibe un elenco diverso de polinizadores) y ubicua (presente en todas las sierras estudiadas). Sin embargo, la fragmentación del paisaje Pampeano debido a la intensificación agrícola ha generado la pérdida de muchos de estos ambientes naturales, por lo que la reintroducción de *E. regnellii* en lugares estratégicos facilitaría la presencia de polinizadores silvestres y el servicio de polinización en el agroecosistema. Dado que un mayor conocimiento sobre la biología reproductiva de la especie brindaría información relevante para su reproducción y reintroducción en áreas degradadas, se estudiaron los requerimientos germinativos de *E. regnellii*. Se evaluó el porcentaje de germinación y el tiempo medio de germinación de un control y de dos tratamientos pre-germinativos: escarificación química con ácido sulfúrico y escarificación mecánica con lija. Las semillas escarificadas químicamente no germinaron, mientras que las escarificadas mecánicamente y el control no presentaron diferencias significativas en (1) los porcentajes de germinación (49% y 59%, respectivamente) y (2) el tiempo medio de germinación (13 y 14 días, respectivamente). Los resultados indican que, bajo las condiciones de laboratorio empleadas, *E. regnellii* no presentó dormancia física y por lo tanto no necesita tratamientos pre-germinativos específicos para germinar. La relativamente alta capacidad germinativa de *E. regnellii*, junto con sus atributos ecológicos, la convierten en una especie potencial para su utilización en la restauración de las interacciones planta-polinizador en el paisaje fragmentado de la Pampa Austral.

Palabras clave: Apiaceae; *Eryngium regnellii*; Requerimientos germinativos; Mutualismo de polinización; Escarificación.

Abstract. *Eryngium regnellii* Malme belongs to the largest genera in the Apiaceae family, with 250 species worldwide and 65 represented in South America. It is a herbaceous species typical of hill plant communities, which, along with remnant grassland patches, are the most relevant natural habitats for the maintenance of diversity in the Southern Pampas. *Eryngium regnellii* is key to the maintenance of pollination mutualisms, being a generalist (displaying a diverse assemblage of pollinators) and ubiquitous species (present in all studied sierras). However, fragmentation of the Pampean landscape due to agricultural intensification has led to the loss of natural environments. Therefore, the reintroduction of *E. regnellii* in strategic places would facilitate the occurrence of wild pollinators, while favoring pollination services in the agroecosystem. The germination requirements of *E. regnellii* were studied because a better knowledge of the reproductive biology of this species would provide information relevant to its reproduction and reintroduction into degraded areas. Germination percentages and mean time to germination were evaluated, using one control and two pre-germination treatments: chemical scarification with sulfuric acid, and mechanical scarification with sand paper. Chemical scarified seeds did not germinate. Mechanically scarified and control seed groups showed no significant differences either in germination percentages (49% and 59% respectively) or in mean germination time (13 and 14 days, respectively). Results indicate that *E. regnellii* shows no physical dormancy, and does not require specific pre-germination treatments for germination under the studied laboratory conditions. The high germination capacity of *E. regnellii*, along with its ecological attributes, make it a potential species for restoring plant-pollinator interactions in the fragmented landscapes of the Southern Pampas.

Keywords: Apiaceae; *Eryngium regnellii*; Germination requirements; Pollination mutualism; Scarification.

¹ CONICET. Laboratorio Ecotono, Universidad Nacional del Comahue. Quintral 1250. 8400. San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina.

² EEA (Estación Experimental Agropecuaria) Balcarce, INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria), CC 276, 7620 Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

Address Correspondence to: Dra. Malena Sabatino, e-mail: malenasabat@gmail.com

Recibido / Received 16.VIII.2014. Aceptado / Accepted 17.IX.2014.

INTRODUCCIÓN

Eryngium regnellii Malme pertenece al género más amplio dentro de la familia Apiaceae, el cual comprende cerca de 250 especies distribuidas en las regiones templadas de todos los continentes, con dos tercios de las mismas en América (Calviño et al., 2008). En América del Sur se registran 65 especies dentro del género, siendo el 69% de ellas endémicas (Zuloaga et al., 2008). Varios trabajos mencionan a las especies del género *Eryngium* como plantas hospedadoras de insectos y otros animales (Elizalde y Lallana, 2000). Su arquitectura y morfología foliar les permite retener agua entre sus hojas basales, convirtiéndose en un hábitat propicio para ninfas, larvas y adultos de varias especies de insectos (Llano, 1961; Drosopoulos y Asche, 1991), por lo que también han sido descritas como plantas formadoras de fitotelmata (Campos, 2010). *Eryngium regnellii* es una especie herbácea típica de los ambientes rocosos, que albergan las comunidades vegetales más características del sistema serrano de Tandilia (Frangi, 1975). Las sierras y cerrilladas, junto con los remanentes de pastizal en otros ambientes de la Pampa Austral, constituyen los hábitats naturales más relevantes para el sostenimiento de la diversidad en general y de las poblaciones de polinizadores silvestres en particular en esta región (Sabatino, 2012). La especie *E. regnellii* cumple un rol clave en las redes de polinización del sistema serrano del sudeste bonaerense por ser una especie generalista y ubicua. Es decir, esta especie posee un elenco diverso de polinizadores y se encuentra presente en todas las sierras hasta el momento estudiadas (Sabatino et al., 2010; Aizen et al., 2012).

En la Pampa Austral, los pastizales nativos fueron en su mayoría reemplazados por cultivos anuales, excepto en las sierras y en algunos pequeños fragmentos aislados conocidos como cerrilladas, que persisten en la matriz de uso agrícola debido a la presencia de afloramientos rocosos que impiden su cultivo (Herrera y Lateral, 2011). El relieve serrano le confiere a la Pampa Austral una biodiversidad distintiva, con más de 400 especies de plantas vasculares nativas y una gran riqueza en endemismos que afloran de las estepas y sitios rocosos (Frangi y Barrera, 1996). La antigüedad geológica y el aislamiento geográfico de las sierras las convierte en fuente y refugio de gran parte de las especies vegetales y animales de la región (De la Sota, 1967; Kristensen y Frangi, 1995). Las mismas son "islas de biodiversidad" en un "mar de cultivos" que constituye la matriz agrícola pampeana (Sabatino et al., 2010). Villamil et al. (1996) consideran que los sistemas serranos concentran el 67% de las plantas vasculares con mayor prioridad de conservación. En el sistema serrano de Tandilia, aproximadamente el 10% de la flora nativa se encuentra bajo algún grado de amenaza (Alonso et al., 2009), debido en varios casos a la reducción del hábitat (Delucchi, 2006). La importancia de estos ambientes como reservas de la biodiversidad original de la región ha sido reconocida por otros autores (Bilenca y

Miñarro, 2004), así como su relevancia para la prestación de valiosos servicios ecosistémicos (MEA, 2005; Barral y Macciera, 2012). Asimismo, muchas especies de plantas herbáceas y arbustivas que se encuentran en las sierras y cerrilladas pueden constituir un recurso importante para sostener las poblaciones de polinizadores, favoreciendo el servicio de polinización a los cultivos cercanos (Carvalho et al., 2011; Sáez et al., 2012). En consecuencia, la conservación de las comunidades vegetales, así como de sus interacciones con los polinizadores, es fundamental para mantener las funciones ecosistémicas que dependen de ellos (Fontaine et al., 2005).

La intensificación agrícola es uno de los principales causantes de la fragmentación de los ambientes naturales y la disminución de la abundancia y diversidad de los polinizadores (Tscharntke y Brandl, 2004; Ricketts et al., 2008; Winfree et al., 2009). En las últimas décadas, la fragmentación del paisaje pampeano se ha incrementado debido a la implementación de un paquete tecnológico simplificado y de alta productividad, integrado por cultivos transgénicos, siembra directa y mayor uso de plaguicidas y herbicidas (Martínez-Ghersa y Ghersa, 2005; Satorre, 2005). La transformación de la tecnología agropecuaria determinó la intensificación de la agricultura en la región y su expansión sobre áreas que hasta entonces eran dedicadas mayormente a la ganadería extensiva sobre pastizales naturales (Paruelo et al., 2006; Bilenca et al., 2009). Esto incluye a las áreas de sierras y cerrilladas que con frecuencia son tratadas con glifosato para promover la germinación de forrajeras anuales como el raigrás (*Lolium multiflorum*) (Herrera et al., 2009, Rodríguez y Jacobo, 2010). El reemplazo de los pastizales nativos por tierras de cultivo o por pasturas anuales ha homogenizado el paisaje y fragmentando la vegetación natural que constituye el hábitat de muchas especies, lo que trae aparejado además de la pérdida de la biodiversidad, un desequilibrio en el ecosistema (Viglizzo et al., 2006; Bernardos y Zaccagnini, 2011). La expansión de las tierras de cultivo a expensas de los ambientes naturales sin considerar el costo ecológico ha significado un incremento del margen económico bruto a costa de la reducción del valor de los servicios del ecosistema (Carreño et al., 2012). Por lo tanto, la restauración de la vegetación nativa y de las interacciones mutualistas no sólo permitiría la recuperación de sus funciones en el ecosistema, sino también de los servicios ecosistémicos asociados (Benayas et al., 2009; Dixon, 2009).

La restauración ecológica es un camino posible para recuperar elementos de la estructura y/o funciones de un ecosistema. Su implementación requiere conocer la composición florística de los tipos de vegetación nativa y su dinámica, así como las relaciones interespecíficas que se dan en la comunidad y los requerimientos ecológicos del sistema en su conjunto (Menz et al., 2011). Un criterio básico que se aplica en las prácticas de restauración y/o rehabilitación mediante la reintroducción de plantas es el empleo de especies nativas (Masini et al., 2012). Para llevar a cabo la producción de



Fig. 1. *Eryngium regnellii* en su hábitat natural en la ladera de la sierra (izquierda). Detalle de la planta en los roquedales serranos (derecha).
 Fig. 1. *Eryngium regnellii* in its natural habitat on the slope of the sierra (left). Plant detail in the rocky hills (right).

plantas a partir de semillas es necesario conocer las estrategias de germinación y las técnicas de cultivo apropiadas (Ulian et al., 2008; Masini et al., 2012), ya que las semillas pueden presentar mecanismos que las mantengan en un estado de latencia. Las semillas de las especies de la familia Apiaceae pueden presentar dormancia morfofisiológica, ocasionada por el embrión rudimentario, que como el nombre lo indica es una combinación de dormancia morfológica y fisiológica (Baskin y Baskin, 1998). Sin embargo, los estudios sobre los requerimientos germinativos de especies del género *Eryngium* son escasos (Fuentes Fiallo et al., 1996; Royal Botanic Gardens Kew, 2008), y son inexistentes para la especie *E. regnellii*.

Dados los atributos ecológicos que presenta *E. regnellii* como especie clave en el mantenimiento de las redes de polinización, la pérdida de muchos de sus hábitats naturales en la región considerada en este estudio y la escasa información disponible sobre los requerimientos germinativos de la especie, determinaron que el objetivo del presente trabajo fuera estudiar las características de las semillas y la germinación de *E. regnellii*. La información generada facilitará su reintroducción en áreas críticas dentro del paisaje fragmentado de la Pampa Austral, particularmente en áreas de sierras y cerrilladas donde la vegetación original fue eliminada mediante herbicidas totales, con el fin de recuperar biodiversidad y promover las relaciones interespecíficas, entre las que se destacan las interacciones mutualistas planta-polinizador. La utilización de especies que cumplen un rol ecológico clave en las redes de polinización podría acelerar el proceso de recuperación de propiedades ecológicas estructurales y funcionales a través de la maximización de las interacciones biológicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción de la especie. *Eryngium regnellii* es una especie herbácea abundante en ambientes serranos de Argentina, Brasil y Uruguay (Calviño y Martínez, 2007). Con anterioridad, fue descrita bajo el nombre de *E. stenophyllum* (Pontiroli, 1966; Frangi, 1975). Perteneció a la sección Panniculata serie Latifolia H. Wolff, una de las más amplias y complejas del género. La sección incluye plantas principalmente sudamericanas, de hábito monocotiledónoide, que combinan hojas estrictamente paralelinervadas con mericarpios lateralmente alados. La serie se caracteriza por sus hojas lineales o subuladas, con un ancho mayor a 1 cm al menos en su mitad inferior. Es una hierba perenne, de 1,5 a 2 m de altura, con rizomas gruesos y corchosos. Se caracteriza por la roseta de hojas muy numerosas y flácidas, erectas en la base y luego recurvadas hacia abajo (Calviño y Martínez, 2007). Posee capítulos blanco-verdosos, más o menos ovoides. Fruto seco, mericarpios con escamas laterales libres y dorso vesiculoso en la parte superior y desnudo en la inferior, o completamente desnudo. Crece principalmente en ambientes rocosos, propios del macizo cristalino de Brasilia, que incluye al sistema serrano de Tandilia (Fig. 1).

Esta especie cumple un rol clave en las comunidades serranas, brindando refugio y alimento a diferentes grupos de animales. Sabatino (2012), en un estudio realizado en las sierras de la región, mostró que sus flores son visitadas por un elenco diverso de polinizadores, siendo la especie vegetal nativa que recibió el mayor número de visitas y que participó en la interacción más frecuente en cinco de las doce sierras estudiadas. Los visitantes más frecuentes registrados en el mencionado estudio fueron los Dípteros (Syrphidae), los Formícidos (*Camponotus* sp.) y los Véspidos (*Polybia scutellaris*); además se observaron visitas de Coleópteros (Staphyli-

nidae, Mordellidae y Cantharidae), Hymenópteros (Apidae, Halictidae) y Lepidópteros (Arctiidae, Nymphalidae, y Hesperidae). En sus tallos secos nidifican hormigas del género *Camponotus*, abejas carpinteras (*Xilocopa ciliata*) y megaquílidos (Megachilidae) (Juan Farina, observación personal). Son hospedantes de larvas de Coleópteros (Llano, 1959) y el alimento exclusivo de las orugas de la mariposa nocturna *Namuncuraia mansosotoi* (Farina, 2005). Asimismo, el pájaro carpintero campestre (*Colaptes campestris*) suele buscar alimento en los tallos secos de *E. regnellii* (Malena Sabatino, observación personal).

Área de estudio. El material empleado en el estudio fue recolectado en la sierra de Los Difuntos (37° 53' 7,26" S, 57° 50' 31,03" O) perteneciente al sistema de Tandilia, en el distrito biogeográfico de la Pampa Austral (Cabrera y Willink, 1973). Las sierras y cerrilladas constituyen uno de los tipos de ambientes naturales característicos incluidos en la matriz de uso agrícola, y junto a la vegetación de pastizales en campos bajos ganaderos constituyen ambientes potencialmente relevantes para las poblaciones de polinizadores silvestres. El tipo de vegetación original predominante en la región es la estepa de gramíneas, compuesta principalmente por especies del género *Stipa* y *Piptochaetium*, entre las cuales crecen numerosas especies herbáceas y algunos sufrutices y arbustos (Cabrera, 1976). Los afloramientos rocosos que emergen de los suelos serranos poseen microhábitats muy particulares, donde se establecen agrupamientos vegetales que pueden considerarse los más característicos o exclusivos de las sierras. En los roquedales altos se encuentra una subcomunidad que se caracteriza por la presencia de *E. regnellii* (la carda) y *Blechnum australe* (helecho serrucho de las sierras), junto con *Poa iridifolia* y otras especies que pueden variar de acuerdo a la altura e inclinación del roquedal (Frangi, 1975).

Recolección, limpieza y almacenamiento de semillas. Se colectaron frutos maduros (esquizocarpos) de 100 plantas de *E. regnellii*, a mediados de marzo del 2013. El material recolectado se almacenó y transportó en bolsas de papel al Laboratorio de Agroecología de la EEA Balcarce-INTA en donde se llevaron a cabo los estudios. Luego de la colecta el material se dejó ventilar durante 48 horas a la sombra y a temperatura ambiente. Los mericarpios se extrajeron manualmente y se revisaron bajo lupa, descartándose los que se encontraban atacados por insectos y los que presentaban el tegumento dañado o vacío. Se conservaron únicamente los mericarpios (de aquí en adelante "semillas") de apariencia sana. Las semillas se almacenaron en un único lote, en heladera a 5.5 °C y en oscuridad, hasta el momento de realizar el estudio (período aproximado de 30 días).

Dimensiones y peso de las semillas. Se midieron las dimensiones de un total de 300 semillas utilizando un calibre digital. A cada semilla se le midieron longitud máxima, ancho máximo y espesor (Sánchez et al., 2001). Se separaron y pesaron tres lotes de 100 semillas cada uno, empleando una balanza de precisión.

Ensayo de germinación. A fin de evaluar los requerimientos pre-germinativos de *E. regnellii*, las semillas fueron sometidas a los siguientes tratamientos: a) escarificación mecánica manual con lija de grano fino, dos minutos, b) escarificación química mediante inmersión en ácido sulfúrico 98%, diez minutos, y c) testigo control. Previo a los tratamientos, las semillas se desinfectaron por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 1% (diez minutos) y se sembraron en cajas de Petri transparente sobre una base de algodón humedecida y cubierta con un papel de filtro. Para cada tratamiento se realizaron 10 repeticiones de 30 semillas cada una. Las semillas se escogieron al azar a partir del lote de semillas. Luego se llevaron a cámara de germinación, con un fotoperiodo de 8 horas de luz y 16 horas en oscuridad y una temperatura constante de 25 °C, durante 46 días. En cada revisión, las cajas fueron cambiadas de posición a fin de evitar posibles variaciones en las condiciones dentro de la cámara. Las semillas se regaron periódicamente y el recuento de semillas germinadas se realizó cada 5 días, utilizándose como criterio de germinación la emergencia de la radícula.

Análisis de datos. Para evaluar los tratamientos pre-germinativos aplicados se determinó el porcentaje final de germinación y el tiempo medio de germinación para cada tratamiento. Para calcular el porcentaje de germinación se consideró el número de semillas germinadas con respecto al número total de semillas puestas a germinar para cada repetición. El tiempo medio de germinación (TMG) se calculó según la ecuación propuesta por Khajeh-Hosseini et al. (2003):

$$TMG = \frac{\sum_{i=1}^n f_i x_i}{\sum_{i=1}^n x_i}$$

Donde f_i es el número de días transcurridos desde que se inició el ensayo de germinación y x_i es el número de semillas que germinaron dentro de intervalos de tiempo consecutivos (5 días). El TMG indica el número promedio de días que tarda una única semilla en germinar. Para la comparación de los porcentajes finales de germinación y de los TMG se realizó una prueba de t de Student. Los datos cumplieron con los requisitos de normalidad y homoscedasticidad (Crawley, 2007). Se analizó además, la variación en el porcentaje de germinación acumulada para cada tratamiento en función del tiempo. Dado que las diferentes observaciones (porcentaje de germinación) fueron obtenidas a partir de medidas repetidas en el tiempo (días), los datos se analizaron mediante un modelo lineal mixto que incluyó a las repeticiones en el tiempo como un factor aleatorio, lo que permitió controlar la pseudoreplicación temporal. Los análisis estadísticos fueron realizados en R (R Development Core Team, 2011). El modelo lineal mixto se ajustó con la función "lmer" del paquete lme4 (Bates y Maechler, 2009). En todos los casos se consideró un error (α) del 5%.

RESULTADOS

Dimensiones y pesos de las semillas. Las semillas de *E. regnellii* presentaron un largo de $2,82 \pm 0,32$ mm (promedio \pm desviación estándar), un ancho de $2,14 \pm 0,34$ mm y un espesor de $0,57 \pm 0,15$ mm. El peso de 100 semillas fue de $0,117 \pm 0,003$ g (promedio \pm desviación estándar).

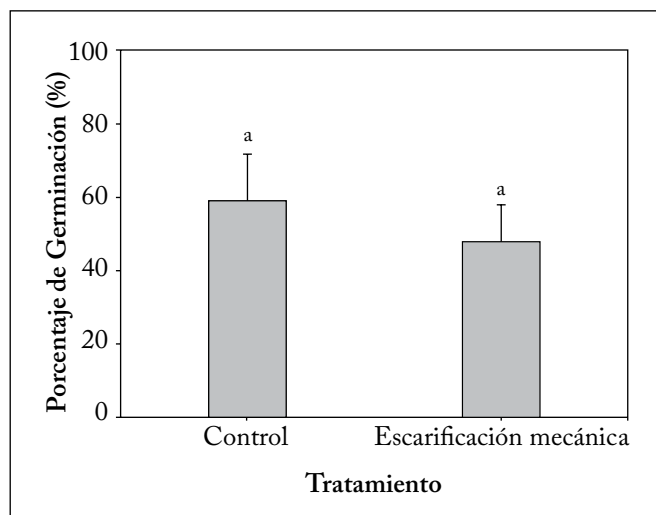


Fig. 2. Porcentaje de germinación de las semillas sometidas a distintos tratamientos. Los tratamientos con igual letra no difieren estadísticamente ($p > 0,05$).

Fig. 2. Percentage germination of seeds exposed to different treatments. Treatments followed by equal letters do not differ significantly ($p > 0,05$).

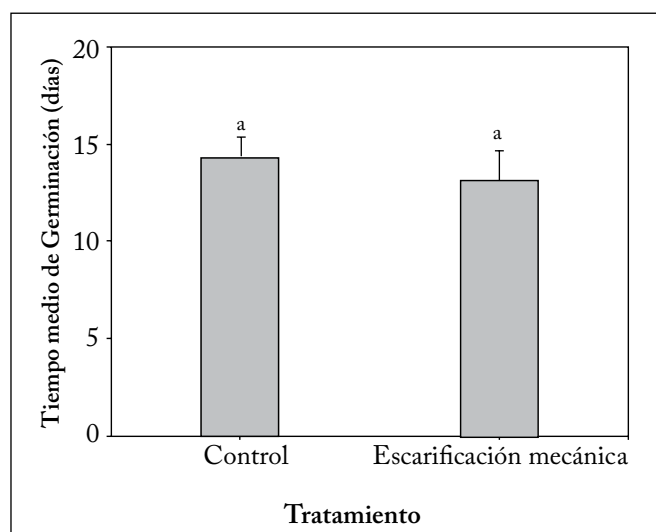


Fig. 3. Tiempo medio de germinación de las semillas sometidas a distintos tratamientos. Los tratamientos con igual letra no difieren estadísticamente ($p > 0,05$).

Fig. 3. Mean germination time of seeds exposed to different treatments. Treatments followed by equal letters do not differ significantly ($p > 0,05$).

Porcentaje de germinación. Las semillas sometidas al tratamiento de escarificación mecánica y en el control germinaron, mientras que las tratadas con ácido sulfúrico no germinaron, por lo que fueron excluidas del análisis. El porcentaje de germinación en las semillas escarificadas fue similar al tratamiento control (49% y 59%, respectivamente); no se hallaron diferencias significativas entre los porcentajes de germinación para los dos tratamientos ($t = -2,02$; $p = 0,06$) (Fig. 2). Los resultados indicaron que las semillas de *E. regnellii* no necesitan de un tratamiento específico de escarificación para germinar en las condiciones de laboratorio empleadas.

Tiempo medio de germinación. El tiempo medio de germinación (TMG) varió entre 13 días para el tratamiento de escarificación mecánica, y 14 días para el control. No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($t = 1,97$; $p = 0,07$) (Fig. 3). Este resultado indica que las semillas de *E. regnellii* no presentan dormancia física, ya que el tratamiento de escarificación no aceleró el tiempo medio de germinación respecto al control.

Los resultados del modelo lineal mixto mostraron que el porcentaje de germinación acumulada fue significativamente diferente entre los tratamientos a partir del día 18 en adelante (Fig. 4). Sin embargo, no hubo diferencias significativas en el porcentaje de germinación acumulada promedio entre tratamientos ($t = 0$, $p = 1$), lo cual coincide con los resultados obtenidos para el TMG.

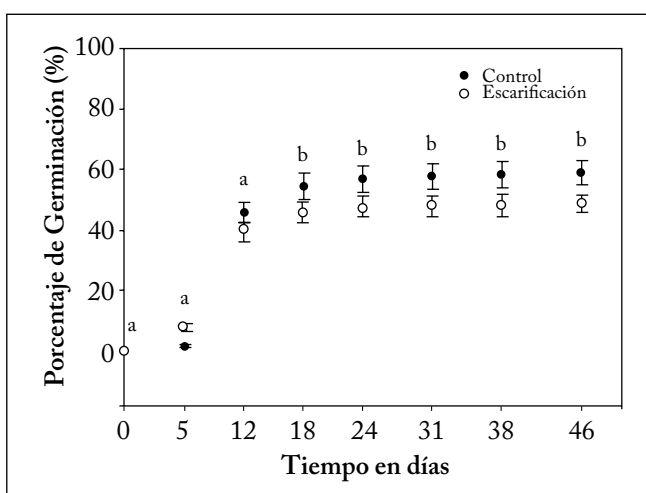


Fig. 4. Porcentaje de germinación acumulada de las semillas en el tiempo para los distintos tratamientos. Cada círculo representa el promedio \pm 1 error estándar de $n = 10$. Los tratamientos con igual letra no difieren significativamente ($p > 0,05$).

Fig. 4. Cumulative percentage germination of seeds over time on the different treatments. Each circle represents the mean \pm 1 standard error of $n = 10$. Treatments followed by equal letters do not differ significantly ($p > 0,05$).

DISCUSIÓN

Las investigaciones realizadas sobre las especies de *Eryngium* son diversas e incluyen el estudio de su distribución, biología y ecología (Elizalde y Lallana, 2000; Calviño y Martínez, 2007; Calviño et al., 2008). Diferentes autores mencionan a especies de este género como componentes de la vegetación natural (Menges y Kimmich, 1996; Molano-Flores, 2001) y como modificadoras de las condiciones edáficas (Karimian y Razmi, 1990), mientras que algunas especies son consideradas malezas importantes de los campos naturales (Elizalde y Lallana, 2000). A pesar de los numerosos estudios en el género y en algunas especies en particular, al momento de realizar este estudio no existía información disponible respecto a la biología reproductiva de *E. regnellii* ni en cuanto a su utilización en trabajos de restauración ecológica.

Los resultados obtenidos en relación a las dimensiones y peso de las semillas nos permiten calcular el número de semillas de un lote en función de su peso, a la vez que se podrían utilizar las dimensiones de las semillas para predecir el peso de las mismas (Sánchez et al., 2001). El peso de las semillas de *E. regnellii* (peso de 1000 semillas extrapolado a partir de los datos: 1,17 g) se encuentra dentro del rango informado para otras especies del género, entre ellas: *Eryngium billardierei* F. Delaroché (peso de 1000 semillas: 5,54 g), *Eryngium paniculatum* Cav. y Dombey ex F. Delaroché (2,08 g), *Eryngium rostratum* Cav. (1,72 g), *Eryngium creticum* Lam. (1,6 g), y *Eryngium heterophyllum* Engelm (0,35 g) (Royal Botanic Gardens Kew, 2008). El peso de la semilla es un rasgo importante para la estrategia de establecimiento de las especies de plantas, ya que el número de semillas que una planta puede producir se encuentra inversamente relacionado a la masa de las semillas producidas (Jakobsson y Eriksson, 2000; Henery y Westoby, 2001). Asimismo, el peso de la semilla es un carácter clave para entender la biología reproductiva de las especies vegetales, dado que es una variable que nos brinda información sobre los mecanismos y capacidad de dispersión de la semilla (Venable y Brown, 1988; Chambers y MacMahon, 1994; Fenner y Thompson, 2005), el riesgo de depredación (Booman et al., 2009), la permanencia en el banco de semillas (Thompson et al., 1993; Bekker et al., 1998; Funes et al., 1999) y su interacción con especies granívoras (Diaz, 1990; Pirk y de Casenave, 2010).

Los resultados de un experimento conducido en los pastizales pampeanos por Murillo et al. (2007) revelaron que la tasa de predación de semillas por pequeños vertebrados e invertebrados en los parches de pastizal son consistentemente bajos, por lo que la disponibilidad de microhábitats podría ser el factor limitante para el reclutamiento de las semillas en el pastizal. Para el mismo sistema, Herrera y Laterra (2009) encontraron que el éxito de los diferentes ensambles de plantas en colonizar parches de pastizales cercanos puede ser explicado por las diferencias en el tamaño de las semillas disponibles

en combinación con los atributos de la comunidad, relacionados a la composición de especies y al régimen de disturbio. Por lo tanto, en la dinámica de colonización de los pastizales pampeanos, el tamaño de la semilla juega un rol importante junto con la estructura de la comunidad residente.

El porcentaje promedio de germinación de las semillas de *E. regnellii* en este estudio (54%) presentó valores inferiores en comparación con estudios realizados en otras especies del mismo género (Royal Botanic Gardens Kew, 2008). Por ejemplo, en el referido estudio, *Eryngium billardierei* F. Delaroché presentó un porcentaje de germinación del 76% a temperatura constante de 10 °C y fotoperiodo de 8/16 horas luz/oscuridad; de 94% a 15 °C y de 90% a 20 °C. *Eryngium caeruleum* M. Bieb, por otro lado, presentó un porcentaje de germinación del 76% a 15 °C y fotoperiodo de 8/16 horas luz/oscuridad, *Eryngium creticum* Lam. del 78% a 20 °C, 8/16, y *Eryngium paniculatum* Cav. y Dombey (ex F. Delaroché) del 80% a 15 °C, 8/16, mientras que *Eryngium rostratum* Cav. presentó 100% de germinación bajo temperatura constante o fluctuante entre 5 y 25 °C, 6/16 (Royal Botanic Gardens Kew, 2008). Debido a que en todos los casos citados la germinación fue mayor que la registrada en el presente estudio, sería de interés evaluar la germinación de *E. regnellii* bajo diferentes regímenes de luz y temperatura en futuros trabajos.

En cuanto a los tratamientos pre-germinativos aplicados a *E. regnellii*, la germinación fue nula en las semillas escarificadas químicamente. Esto sugiere que muy probablemente existió un daño a las semillas por acción del ácido empleado. Al mismo tiempo, las semillas escarificadas mecánicamente con lija y el tratamiento control presentaron valores semejantes, aunque no mayores del 60%. Estos resultados indicarían que las semillas de *E. regnellii* no presentan mecanismos de dormancia física. Sin embargo, las semillas de especies de la familia Apiaceae con frecuencia presentan dormancia morfológica o morfofisiológica (Baskin y Baskin, 2004; Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). En otras especies de la misma familia (*Heracleum sphondylium*), se ha demostrado que las bajas temperaturas son necesarias para que las reservas alimenticias del endospermo de las semillas estén disponibles para el desarrollo del embrión (Stokes, 1952 citado en Baskin y Baskin, 1998). Para *Thaspium pinnatifidum* (Apiaceae) se registró que la estratificación fría de las semillas a 5 °C durante cuatro semanas estimuló el crecimiento del embrión y promovió la germinación (Baskin y Baskin, 1998). Para la especie *Eryngium martimum* existe información sobre la presencia de un embrión rudimentario al momento de la maduración y dispersión de las semillas, por lo que se requiere romper la dormancia mediante tratamientos de estratificación húmeda fría (Necajeva y Ievinsh, 2013). Estudios de germinación realizados con *Eryngium foetidum* L. evaluaron la germinación a diferentes tiempos desde la cosecha, y registraron que las semillas de esta especie requieren de un tiempo post maduración, encontrando entre los 6-8 meses posteriores los valores más altos de germinación (Fuentes Fiallo et al., 1996). Dado

que en este trabajo las semillas de *E. regnellii* fueron almacenadas durante 30 días a 5,5 °C, futuros estudios deberían evaluar su germinación bajo diferentes períodos y condiciones de almacenamiento. Probablemente, esto permitiría conocer las condiciones que permiten desbloquear procesos morfofisiológicos como los registrados para otras especies del género, y en consecuencia lograr porcentajes de germinación aún mayores a los registrados en este estudio. No obstante, los valores de germinación registrados para *E. regnellii* en este trabajo pueden considerarse altos (>50%), según Rovere (2006).

En paisajes fragmentados los polinizadores y/o dispersores son responsables por el flujo génico entre poblaciones de plantas disyuntas (Rovere et al., 2006; Mathiasen et al., 2007; Garcia et al., 2010), actuando como enlaces móviles entre áreas degradadas o sujetas a restauración y las áreas conservadas (Garcia et al., 2010; Ceccon, 2013). A fin de promover el restablecimiento de la estructura de la comunidad vegetal y la restauración del mutualismo de polinización en un hábitat fragmentado y degradado como los pastizales pampeanos, una estrategia es la formación y/o conservación de microhábitats con especies de plantas que atraigan y mantengan a los polinizadores (Dixon, 2009; Menz et al., 2011). Estos sitios pueden actuar como núcleos de regeneración, propicios para la llegada de otras especies animales y vegetales (Reis et al., 2010). Los roquedales o cerrilladas, así como los ambientes ruderales y seminaturales, cumplen este rol en el paisaje pampeano, ya que pueden atraer a los polinizadores y dispersores, mejorar el microclima y las condiciones del suelo (Zaccagnini et al., 2001; Sáez et al., 2014). La conservación y restauración de estos sitios que actúan como “islas de vegetación”, pueden acelerar la formación de nichos de regeneración y colonización de nuevas poblaciones a través de la facilitación, lo que contribuye a tener nuevas conexiones en un paisaje fragmentado (Chacon y Harvey, 2008). La alta capacidad germinativa de *E. regnellii*, junto con sus atributos ecológicos como especie generalista en el elenco de polinizadores y como planta hospedadora de diversos grupos de insectos y otros animales, la convierten en una especie potencial para su utilización en procesos de restauración ecológica de las interacciones planta-polinizador en el paisaje fragmentado de la Pampa Austral.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo fue financiado por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Unidad Integrada Balcarce (PNNAT 1128053) y por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (PIP 11420100100258).

REFERENCIAS

- Aizen, M.A., M. Sabatino y J.M. Tylianakis (2012). Specialization and Rarity Predict Nonrandom Loss of Interactions from Mutualist Networks. *Science* 335: 1486-1489.
- Alonso, S.I., V.N. Ispizúa, M.C. Nuciari, A.M. Clausen y M. Calandroni (2009). Valor actual y potencial de los recursos florísticos del sistema serrano de tandilia (Buenos Aires, Argentina). Simposio de recursos genéticos para América Latina y el Caribe Pucón, Chile, p. 453-454.
- Barral, M.P y N.O. Maceira (2012). Land-use planning based on ecosystem service assessment: a case study in the Southeast Pampas of Argentina. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 154: 34-43.
- Baskin, C.C. y Baskin J.M. (1998). Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic Press, San Diego, USA.
- Baskin, J.M. y Baskin C.C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14: 1-16.
- Bates, D. y M. Maechler (2009). lme4: Linear mixed-effects models using S4 classes. R package version 0.999375-31.
- Bekker, R.M., Bakker J.P., Grandin U., Kalamees R., Milberg P., Poschod P., Thompson K. y Willems J.H. (1998). Seed size, shape and vertical distribution in the soil: indicators of seed longevity. *Functional Ecology* 12: 834-842.
- Benayas J.M.R., Newton A.C., Diaz A. y Bullock J.M. (2009). Enhancement of biodiversity and ecosystem services by ecological restoration: a meta-analysis. *Science* 325: 1121-1124.
- Bernardos, J. y Zaccagnini M.E. (2011). El uso de insecticidas en cultivos agrícolas y su riesgo potencial para las aves en la Región Pampeana. *Hornero* 26 (1): 55-64.
- Bilenca, D., Codesido M., Fischer C.G. y Carusi L.P. (2009). Impactos de la actividad agropecuaria sobre la biodiversidad en la ecorregión pampeana. INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Bilenca, D.N. y Miñarro F.O. (2004). Identificación de áreas valiosas de pastizal en las pampas y campos de Argentina, Uruguay y sur de Brasil. Fundación Vida Silvestre Argentina, Buenos Aires, Argentina.
- Booman, G.C., Laterra P., Comparatore V. y Murillo N. (2009). Post-dispersal predation of weed seeds by small vertebrates: interactive influences of neighbor land use and local environment. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 129: 277-285.
- Cabrera, A.L. (1976). Regiones fitogeográficas de la República Argentina. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. ACME, Buenos Aires, Argentina.
- Cabrera, A.L. y Willink A. (1973). Biogeografía de América Latina. Organización de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, DC, USA.
- Calviño, C.I. y Martínez S.G. (2007). Nuevas citas para Argentina y Uruguay, y notas sobre *Eryngium* sect. Panniculata (Apiaceae). *Darwiniana* 45: 68-76.
- Calviño, C.I., Martínez S.G. y Downie S.R. (2008). The evolutionary history of *Eryngium* (Apiaceae, Saniculoideae): Rapid radiations, long distance dispersals, and hybridizations. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 46: 1129-1150.
- Campos, R.E. (2010). *Eryngium* (Apiaceae) *phytotelmata* and their macro-invertebrate communities, including a review and bibliography. *Hydrobiologia* 652: 311-328.
- Carreño, L., Frank F.C. y Viglizzo E.F. (2012). Tradeoffs between economic and ecosystem services in Argentina during 50 years of land-use change. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 154: 68-77.
- Carvalho, L.G., R. Veldtman, A.G. Shenkute, G.B. Tesfay, C.W.W. Pirk, J.S. Donaldson y S.W. Nicolson (2011). Natural and within-farmland biodiversity enhances crop productivity. *Ecology Letters* 14: 251-259.

- Ceccon, E. (2013). Restauración en bosques tropicales fundamentos ecológicos prácticos y sociales. Díaz de Santos/UNAM-CRIM, Madrid, España.
- Chacon, L.M. y C.A. Harvey (2008). Contribuciones de las cercas vivas a la estructura y la conectividad de un paisaje fragmentado en Río Frío, Costa Rica. En: Harvey C.A. y Sénez J.C. (eds), pp. 225-250. Evaluación y conservación de biodiversidad en paisajes fragmentados de Mesoamérica Instituto Nacional de Biodiversidad INBIO, Santo Domingo de Heredia, Costa Rica.
- Chambers, J.C. y J.A. MacMahon (1994). A day in the life of a seed: movements and fates of seeds and their implications for natural and managed systems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 25: 263-292.
- Crawley, M.J. (2007). The R book. Chichester, England.
- De la Sota, E.R. (1967). Composición, origen y vinculaciones de la flora pteridológica de las sierras de Buenos Aires (Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 11: 105-128.
- Delucchi, G. (2006). Las especies vegetales amenazadas de la Provincia de Buenos Aires: Una actualización. *APRONA Boletín Científico* 39: 19-31.
- Díaz, M. (1990). Interspecific patterns of seed selection among granivorous passerines: effects of seed size, seed nutritive value and bird morphology. *IBIS* 132: 467-476.
- Dixon, K.W. (2009). Pollination and restoration. *Science* 325: 571-573.
- Drosopoulos, S. y M. Asche (1991). Biosystematic studies on the spittle bug genus *Philaenus* with the description of a new species. *Zoological Journal of the Linnean Society* 101: 169-177.
- Elizalde, J.H.I. y V.H. Lallana (2000). Revisión sobre aspectos bioecológicos de especies del género *Eryngium* (Apiaceae). *Revista de la Facultad de Agronomía UBA* 20: 269-279.
- Farina, J.L. (2005). Nuevos datos bionómicos de *Namuncuraia mansosotoi* Orfila, 1951 (Lepidoptera, Saturniidae). I Encuentro sobre Lepidoptera Neotropical, Campinas, Brasil.
- Fenner, M. y K. Thompson (2005). The ecology of seeds. University Press, Cambridge.
- Finch-Savage, W.E. y G. Leubner-Metzger (2006). Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171: 501-523.
- Fontaine, C., I. Dajoz, J. Meriguet y M. Loreau (2005). Functional diversity of plant-pollinator interaction webs enhances the persistence of plant communities. *PLoS Biology* 4 (1).
- Frangi, J.L. (1975). Sinopsis de las Comunidades Vegetales y el Medio de las Sierras de Tandil (Provincia de Buenos Aires). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 16 (4).
- Frangi, J. y M. Barrera (1996). Biodiversidad y dinámica de los pastizales en la Sierra de la Ventana, Provincia de Buenos Aires. En: Sarmiento G. y Cabido M. (eds.), pp. 134-162. Biodiversidad y funcionamiento de pastizales y sabanas en América Latina.
- Fuentes Fiallo, V.R., N.N. Rodríguez Medina y C.A. Rodríguez Ferrada (1996). La germinación del culantro (*Eryngium foetidum* L.). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 1: 31-33.
- Funes, G., S. Basconcelo S. Díaz y M. Cabido (1999). Seed size and shape are good predictors of seed persistence in soil in temperate mountain grasslands of Argentina. *Seed Science Research* 9: 341-345.
- García, D., R. Zamora y G.C. Amico (2010). Birds as Suppliers of Seed Dispersal in Temperate Ecosystems: Conservation Guidelines from Real-World Landscapes. *Conservation Biology* 24: 1070-1079.
- Henery, M.L. y M. Westoby (2001). Seed mass and seed nutrient content as predictors of seed output variation between species. *Oikos* 92: 479-490.
- Herrera, L.P. y P. Laterra (2009). Do seed and microsite limitation interact with seed size in determining invasion patterns in flooding Pampa grasslands?. *Plant Ecology* 201: 457-469.
- Herrera, L.P., P. Laterra, N.O. Maceira, K.D. Zelaya y G.A. Martínez (2009). Fragmentation status of tall-tussock grassland relicts in the Flooding Pampa, Argentina. *Rangeland Ecology and Management* 62: 73-82.
- Herrera, L.P. y P. Laterra (2011). Relative influence of size, connectivity and disturbance history on plant species richness and assemblages in fragmented grasslands. *Applied Vegetation Science* 14: 181-188.
- Jakobsson, A. y O. Eriksson (2000). A comparative study of seed number, seed size, seedling size and recruitment in grassland plants. *Oikos* 88: 494-502.
- Karimian, N. y K. Razmi (1990). Influence of perennial plants on chemical properties of arid calcareous soils in Iran. *Soil Science* 150: 717-721.
- Khajeh-Hosseini, M., A.A. Powell y I.J. Bingham (2003). The interaction between salinity stress and seed vigour during germination of soybean seeds. *Seed Science and Technology* 21: 715-725.
- Kristensen, M.J. y J.L. Frangi (1995). La sierra de la ventana: una isla de biodiversidad. *Ciencia Hoy* 5: 25-34.
- Llano, R.J. (1959). Observaciones biológicas de insectos bonaerenses. Ministerio de educación de la provincia de Buenos Aires.
- Llano, R.J. (1961). Especies del género *Eryngium* (Familia Umbelliferae) hospedadores de diversos seres animales. Primera Reunion de Trabajos y Comunicaciones de Ciencias Naturales y Geografía del Litoral Argentino, pp. 299-305.
- Martínez-Ghersa, M.A. y C.M. Ghersa (2005). Consecuencias de los recientes cambios agrícolas. *Ciencia Hoy* 15: 37-45.
- Masini, A.C.A., A.E. Rovere y D.R. Pérez (2012). Requerimientos pregerminativos de dos especies leñosas: *Anarthrophyllum capitatum* Sorarú y *Anarthrophyllum elegans* (Gillies ex Hook. y Arn.) F. Philippi. *Quebracho (Santiago del Estero)* 20: 85-96.
- Mathiasen, P., A.E. Rovere y A. Premoli (2007). Genetic structure and early acting effects of inbreeding in fragmented temperate forests of a self-incompatible tree, *Embothrium coccineum*. *Conservation Biology* 21: 232-240.
- MEA (2005). Millennium Ecosystem Assessment, Ecosystems and human well-being. Synthesis. Island Press, Washington DC.
- Menges, E.S. y J. Kimmich (1996). Microhabitat and time-since-fire: effects on demography of *Eryngium cuneifolium* (Apiaceae), a Florida scrub endemic plant. *American Journal of Botany* 83: 185-191.
- Menz, M.H.M., R.D. Phillips, R. Winfree, C. Kremen, M.A. Aizen, S.D. Johnson y K.W. Dixon (2011). Reconnecting plants and pollinators: challenges in the restoration of pollination mutualisms. *Trends in Plant Science* 16: 4-12.
- Molano-Flores, B. (2001). Reproductive biology of *Eryngium yuccifolium* (Apiaceae), a prairie species. *Journal of the Torrey Botanical Society* 128: 1-6.
- Murillo, N., P. Laterra y G. Monterubbianesi (2007). Post-dispersal granivory in a tall-tussock grassland: A positive feedback mechanism of dominance? *Journal of Vegetation Science* 18: 799-806.
- Necajeva, J. y G. Ievinsh (2013). Seed dormancy and germination of an endangered coastal plant *Eryngium maritimum* (Apiaceae). *Estonian Journal of Ecology* 62 (2).

- Paruelo, J.M., J.P. Guerschman, G. Piñeiro, E.G. Jobbágy, S.R. Verón, G. Baldi y S. Baeza (2006). Cambios en el uso de la tierra en Argentina y Uruguay: marcos conceptuales para su análisis. *Agrociencia* 10: 47-61.
- Pirk, G.I. y J.L. de Casenave (2010). Influence of seed size on feeding preferences and diet composition of three sympatric harvester ants in the central Monte Desert, Argentina. *Ecological Research* 25: 439-445.
- Pontiroli, A. (1966). Umbelliferae. En: Flora de la Provincia de Buenos Aires (Ed. Cabrera A.L.). Colección Científica INTA, pp. 337-403.
- R Development CoreTeam (2011). R: A language and environment for statistical computing. En: R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Reis, A., F.C. Bechara y D.R. Tres (2010). Nucleation in tropical ecological restoration. *Scientia Agricola* 67: 244-250.
- Ricketts, T.H., J. Regetz, I. Steffan Dewenter, S.A. Cunningham, C. Kremen, A. Bogdanski, B. Gemmill Herren, S.S. Greenleaf, A.M. Klein y M.M. Mayfield (2008). Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns? *Ecology Letters* 11: 499-515.
- Rodriguez, A.M. y E.J. Jacobo (2010). Glyphosate effects on floristic composition and species diversity in the Flooding Pampa grassland (Argentina). *Agriculture, Ecosystems and Environment* 138: 222-231.
- Rovere, A.E. (2006). Cultivo de Plantas Nativas Patagónicas: árboles y arbustos. Editorial Caleuche, San Carlos de Bariloche.
- Rovere, A.E., C. Smith-Ramirez, J. Armesto y A. Premoli (2006). Breeding system of *Embothrium coccineum* J.R. et G. Forster (Proteaceae) in two populations on different slopes of the Andes. *Revista Chilena de Historia Natural* 79: 225-232.
- Royal Botanic Gardens Kew (2008). Seed information database (SID). Version 7.1.
- Sabatino, M. (2012). Dinámica de las redes de interacción planta-polinizador en las sierras de Tandilia y su interrelación con la estructura del paisaje. Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.
- Sabatino, M., N. Maceira y M. Aizen (2010). Direct effects of habitat area on interaction diversity in pollination webs. *Ecological Applications* 20: 1491-1497.
- Sáez, A., M. Sabatino y M. Aizen (2014). La diversidad floral del borde afecta la riqueza y abundancia de visitantes florales nativos en cultivos de girasol. *Ecología Austral* 24: 94-102.
- Sáez, A., M. Sabatino y M.A. Aizen (2012). Interactive Effects of Large-and Small-Scale Sources of Feral Honey-Bees for Sunflower in the Argentine Pampas. *Plos One* 7 (1): e30968.
- Sánchez, A.M., F.M. Azcárate, L. Arqueros y B. Peco (2001). Volumen y dimensiones como predictores del peso de semilla en especies herbáceas del centro de la Península Ibérica. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 59: 249-262.
- Satorre E. (2005). Cambios tecnológicos en la agricultura argentina actual. *Ciencia Hoy* 15: 24-31.
- Thompson, K., S.R. Band y J.G. Hodgson (1993). Seed size and shape predict persistence in soil. *Functional Ecology* 7: 236-241.
- Tscharntke, T. y R. Brandl (2004). Plant-insect interactions in fragmented landscapes. *Annual Review of Entomology* 49: 405-430.
- Ulian, T., A.E. Rovere y B. Muñoz (2008). Taller sobre conservación de semillas para la restauración ecológica. *Ecosistemas* 17:147-148.
- Venable, D.L. y J.S. Brown (1988). The selective interactions of dispersal, dormancy, and seed size as adaptations for reducing risk in variable environments. *American Naturalist* 131: 360-384.
- Viglizzo, E., F. Frank y L. Carreño (2006). Situación ambiental en las ecorregiones Pampa y Campos y Malezales. En: Brown A.D., Ortiz U.M., Acerbi M. y Corcuera J. (eds), pp. 261-278. La Situación Ambiental Argentina 2005. Fundación Vida Silvestre Argentina, Buenos Aires.
- Villamil, C.B., G. Deluchi y M.A. Long (1996). Cincuenta especies prioritarias para su conservación en la provincia de Buenos Aires. XXV Jornadas Argentinas de Botánica, Mendoza, pp. 263-269.
- Winfree, R., R. Aguilar, D.P. Vázquez, G. LeBuhn y M.A. Aizen (2009). A meta-analysis of bees' responses to anthropogenic disturbance. *Ecology* 90: 2068-2076.
- Zaccagnini, M.E., N.C. Calamari, J.L. Panigatti, D. Buschiazzo y H. Marelli (2001). Labranzas conservacionistas, siembra directa y biodiversidad. *Siembra Directa* 2: 29-68.
- Zuloaga, F.O., O. Morrone y M.J. Belgrano (2008). Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur. Missouri Botanical Garden, Saint Louis.