

## Pol·linització i reproducció de l'esperó de Bolòs (*Delphinium bolosii*) al Parc Natural de Sant Llorenç del Munt i l'Obac

MARIA BOSCH DANIEL,<sup>1</sup> ANTONI MAMPEL MARIMON,<sup>2</sup> ISETA BACHS I PRIM,<sup>2</sup> SERGI MASSÓ I ALEMÁN,<sup>1,3</sup> JORDI LÓPEZ-PUJOL<sup>3</sup> i CÈSAR BLANCHÉ VERGÉS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>BioC, GReB, Laboratori de Botànica. Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació. Institut de Recerca de la Biodiversitat (IRBio). Universitat de Barcelona

<sup>2</sup>Oficina Tècnica de Parcs Naturals. Diputació de Barcelona

<sup>3</sup>BioC, GReB, Institut Botànic de Barcelona. Consell Superior d'Investigacions Científiques. Institut de Cultura de Barcelona (IBB, CSIC-ICUB)

### Resum

S'ha fet un estudi reproductiu de la població retrobada de *Delphinium bolosii* (*Ranunculaceae*) al Parc Natural de Sant Llorenç del Munt i l'Obac. S'ha examinat la morfologia floral i la producció de flors, les recompenses florals (pol·len i nèctar), la relació P/O, el grau de dependència dels pol·linitzadors per a la producció de granes, la freqüència de pol·linitzadors i la seva eficàcia mitjançant les càrregues pol·líniques estigmàtiques, l'èxit reproductiu i altres interaccions biològiques. Les dades obtingudes s'han comparat amb les d'altres poblacions de l'espècie o d'espècies molt properes per valorar-ne el comportament reproductor sexual. Els resultats indiquen que no es detecta cap limitació reproductiva d'aquesta població al Parc.

### Paraules clau

*Delphinium*, pol·linització, mutualisme, relació P/O, autogàmia

### Resumen

#### Polinización y reproducción de la espuela de Bolòs (*Delphinium bolosii*) en el Parque Natural de Sant Llorenç del Munt i l'Obac

Se ha realizado un estudio reproductivo de la población reencontrada de *Delphinium bolosii* (*Ranunculaceae*) en el Parque Natural de Sant Llorenç del Munt i l'Obac. Se ha examinado la morfología floral y la producción de flores, las recompensas florales (polen y néctar), la relación P/O, el grado de dependencia de los polinizadores para la producción de semillas, la frecuencia de polinizadores y su eficacia mediante las cargas polínicas estigmáticas, el éxito reproductivo y otras interacciones biológicas. Los datos obtenidos se han comparado con los de otras poblaciones de la especie o de especies muy próximas para valorar su comportamiento reproductivo sexual. Los resultados indican que no se detecta ninguna limitación reproductiva de esta población en el Parque.

### Palabras clave

*Delphinium*, polinización, mutualismo, relación P/O, autogamia

### Abstract

#### Pollination and Reproduction of the Bolòs Larkspur (*Delphinium Bolosii*) in Sant Llorenç del Munt i l'Obac Nature Park

A reproductive study of the rediscovered population of *Delphinium bolosii* (*Ranunculaceae*) has been conducted in Sant Llorenç del Munt i l'Obac Nature Park. We have examined floral morphology and flower production, floral rewards (pollen and nectar), the P/O ratio, the degree of dependence on pollinators for seed production, the frequency of pollinators and their effectiveness through stigmatic pollen loads, reproductive success and other biological interactions. The data obtained have been compared with those of other populations of the species or of closely related species to assess their sexual reproductive behaviour. The results indicate that no reproductive limitation of this population is detected in the Park.

### Key words

*Delphinium*, pollination, mutualism, P/O rate, autogamy

## Introducció

El contingut d'aquesta comunicació forma part del Projecte FBG 307801 (MOLE-RO *et al.*, 2014) (detalls a BOSCH *et al.*, 2018). L'esperó de Bolòs, *Delphinium bolosii* (*Ranunculaceae*), és un dels endemismes emblemàtics de Catalunya que es troba amenaçat i protegit legalment (SÁEZ *et al.*, 2010). Després de retrobar-lo al Parc Natural de Sant Llorenç de Munt i l'Obac (PÉREZ-RAVENTÓS i HERNÁNDEZ-CARDONA, 2013), de fer-ne una caracterització taxonòmica i de les llavors, del nombre cromosòmic i de la diversitat genètica (BLANCHÉ *et al.*, 2014; LÓPEZ-PUJOL *et al.*, 2014), s'ha valorat la funcionalitat de la reproducció sexual en la població del Parc per esbrinar si està amenaçada des d'aquest punt de vista. Se n'ha analitzat la morfologia i les recompenses florals, la producció de flors, el sistema reproductiu i la dependència dels pol·linitzadors per produir granes, els pol·linitzadors i les càrregues pol·líniques que dipositen als estigmes, l'èxit reproductiu i altres interaccions biològiques.

## Material i mètodes

L'estudi es va desenvolupar durant els mesos de juny-juliol de 2014 en la població del Parc, prop de Mura (codi MUR), en un segon nucli en el mateix torrent, a 600 m d'on es va descobrir el primer individu, atès l'accés difícil a la majoria d'individus del primer nucli. Les dades obtingudes s'han comparat amb les d'altres poblacions o tàxons propers de la sèrie *Fissa* (Bosch, 1999), mitjançant anàlisis ANOVA, amb el programa Statgraphics<sup>R</sup> (versió 16.1.11).

## Morfologia floral

Les flors de *D. bolosii* tenen el periant petaloide amb cinc sèpals (dos de laterals, dos d'inferiors i un que s'allarga en un esperó) i quatre pètals (dos de superiors, inclosos dins l'esperó amb l'extrem distal cònic per on secreten nèctar, i dos de laterals). En 32 flors s'han mesurat els paràmetres següents: longitud total de la flor, de l'esperó extern i del pètal nectarífer intern, longitud del sèpal lateral i inferior, longitud total, parcial i amplada del pètal lateral, observant-ne la pilositat, la forma i l'angle, i l'entrada a la flor (alçada del lòbul del pètal superior) (figura 1).

**Figura 1. Representació gràfica dels paràmetres mesurats en les flors de *D. bolosii*: 1) longitud total de la flor, 2) longitud de l'esperó extern, 3) longitud del sèpal lateral, 4) longitud del sèpal inferior, 5) longitud total del pètal lateral, 6) longitud parcial del pètal lateral, 7) amplada del pètal lateral, 8) alçada del lòbul del pètal superior**



Foto: M. Bosch.

## Resultats i discussió

La mida de les peces florals del Parc (MUR) és semblant a la de les altres poblacions (taula 1) i més gran que les dues subespècies de *D. fissum*, del mateix grup taxonòmic (BOSCH, 1999). Tot i així, les anàlisis estadístiques revelen petites diferències entre les tres poblacions de *D. bolosii* en la longitud total de la flor (ANOVA  $F_{2,89} = 9,08$ ,  $P = 0,0003$ ) i la longitud de l'esperó extern ( $F_{2,89} = 60,34$ ,  $P = 0,000$ ) i l'intern ( $F_{2,89} = 47,68$ ,  $P = 0,000$ ), i les flors de MUR són intermèdies entre RBO i ULL o més properes a ULL (codis en la taula 1). També hi ha diferències en la

longitud del sèpal lateral ( $F_{2,89} = 4,85, P = 0,01$ ) i l'inferior ( $F_{2,89} = 4,01, P = 0,0214$ ), lleument més curts a MUR. En canvi, no hi ha diferències en l'alçada del lòbul del pètal superior ( $F_{2,89} = 3,14, P = 0,05$ ), ni en la longitud total ( $F_{2,89} = 2,31, P = 0,1$ ) o parcial del pètal lateral ( $F_{2,89} = 0,41, P = 0,66$ ), però sí en la seva amplada ( $F_{2,89} = 11,47, P = 0,000$ ), un xic més gran a MUR. Aquest pètal és subquadrangular, bífid, amb pilositat blanca, i forma un angle de  $180^\circ$  amb la resta de peces. De color, són d'un violat grisenc, amb una certa variabilitat. S'ha trobat algun individu quasi albi, que pot afectar l'atracció dels pol·linitzadors.

**Taula 1. Dimensions de les peces florals al Parc i en diferents poblacions de *D. bolosii* (Bosch, 1999)**

Tàxon	N	Longitud total flor	Longitud esperó extern	Longitud esperó intern	Longitud sèpal lateral	Longitud sèpal inferior
<i>D. bolosii</i> (MUR)	32	31,78 ± 0,53 (25-37)	18,16 ± 0,41 (14-24)	16,97 ± 0,31 (14-21)	13,31 ± 0,27 (10-16)	13,25 ± 0,27 (10-16)
<i>D. bolosii</i> (RBO)	30	30,30 ± 0,37 (27-35)	14,23 ± 0,27 (11-17)	13,60 ± 0,23 (10-15)	14,07 ± 0,16 (12-16)	14,05 ± 0,21 (12-17)
<i>D. bolosii</i> (ULL)	30	33,00 ± 0,39 (28-39)	19,57 ± 0,34 (14-24)	15,00 ± 0,15 (14-16)	14,12 ± 0,14 (12-15)	13,93 ± 0,13 (12-15)

Tàxon	Longitud total pètal lateral	Longitud parcial pètal lateral	Amplada pètal lateral	Alçada lòbul pètal superior
<i>D. bolosii</i> (MUR)	10,78 ± 0,20 (9-14)	5,19 ± 0,07 (5-6)	5,22 ± 0,10 (4-6)	5,03 ± 0,11 (4-6)
<i>D. bolosii</i> (RBO)	11,22 ± 0,11 (10-12,5)	5,28 ± 0,06 (4-6)	4,85 ± 0,08 (4-6)	4,87 ± 0,06 (4-5,5)
<i>D. bolosii</i> (ULL)	11,07 ± 0,09 (10-12)	5,22 ± 0,07 (5-6)	4,63 ± 0,08 (4-5)	4,72 ± 0,08 (4-5,5)

En cada cas, s'indica la mitjana ± error estàndard i l'interval de les mesures, en mil·límetres.

MUR: Mura (Bages, Barcelona); RBO: Rubió (Noguera, Lleida); ULL: Ulldemolins (Priorat, Tarragona).

## Producció de flors

La inflorescència de *D. bolosii* és majoritàriament un raïm simple i, a vegades, una panícula, una o poques ramificacions laterals petites. S'ha quantificat la producció de flors per inflorescència i, si té ramificacions laterals, el nombre de flors de la tija principal i dels raïms laterals, el grau de ramificació i el nombre de raïms laterals o primaris.

## Resultats i discussió

El nombre total de flors per individu de *D. bolosii* al Parc és de mitjana 30,5 (l'any 2014), més baix que en les altres dues poblacions de l'espècie (**taula 2**) ( $F_{2,196} = 3,18$ ,  $P = 0,043$ ). Cal tenir present, però, que la producció de flors fluctua d'un any a l'altre en funció de les condicions climàtiques i dels recursos disponibles, com s'ha comprovat en el seguiment del període 2014-2017 al Parc (Bosch *et al.*, 2018) o a les poblacions RBO i ULL els anys 2001-2006, pel projecte AFA (Bosch *et al.*, 2009), en què els valors oscil·laven entre 18 i 38 flors per individu de mitjana a RBO i 25 i 38 a ULL, inferiors als de la **taula 2**, mesurats en el període 1992-1995. Per tant, la producció de flors al Parc aquell any és dins dels marges de variació de l'espècie. El nombre de flors de la tija principal ( $F_{2,196} = 3,8$ ,  $P = 0,024$ ) segueix el mateix patró (més baix al Parc), però, en canvi, no s'han detectat diferències significatives en el nombre de flors per raïm lateral ( $F_{2,75} = 0,15$ ,  $P = 0,86$ ). Pel que fa al grau de ramificació ( $F_{2,196} = 5,44$ ,  $P = 0,005$ ) i al nombre de raïms laterals ( $F_{2,196} = 5,96$ ,  $P = 0,003$ ), són més baixos en la població del Parc, per tant, està menys ramificat. Cal esmentar que les flors dels raïms laterals, tot i que permeten allargar la floració, quasi mai no arriben a fructificar.

**Taula 2. Producció de flors i ramificacions al Parc i en diferents poblacions de *D. bolosii* (Bosch, 1999)**

Tàxon	N	Nombre total de flors	Nombre flors tija principal	Nombre flors raïm lateral	Grau de ramificació	Nombre de raïms laterals
<i>D. bolosii</i> (MUR)	23	30,5 ± 4,3 (5-96)	26,4 ± 2,7 (5-49)	13,6 ± 1,9 (7-20)	0,1 ± 0,1 (0-1)	0,3 ± 0,2 (0-3)
<i>D. bolosii</i> (RBO)	102	44,3 ± 2,8 (12-158)	34,1 ± 1,2 (9-64)	12,7 ± 0,9 (1-36)	0,5 ± 0,1 (0-1)	0,8 ± 0,1 (0-4)
<i>D. bolosii</i> (ULL)	74	39,3 ± 2,3 (14-101)	34,7 ± 1,6 (14-74)	11,2 ± 1,4 (2-34)	0,4 ± 0,1 (0-1)	0,4 ± 0,1 (0-3)

En cada cas, s'indica la mitjana ± error estàndard i l'interval de les mesures. Codis de població: **taula 1**.

## Recompenses florals: pol·len

Una recompensa que ofereix als pol·linitzadors és el pol·len que, segons les observacions de camp (**taula 4**), és aprofitat per abellots que el col·lecten i l'acumulen a les potes per dur-lo al niu o consumit directament per abelles solitàries, sírfids, coleòpters i heteròpters. El detall de com es mesura i els resultats de la producció són a l'apartat de la relació P/O.

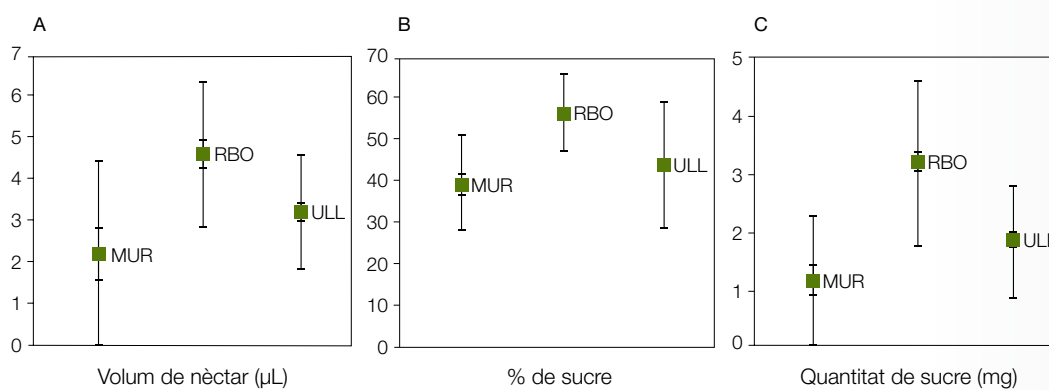
## Recompenses florals: nèctar

Una altra recompensa és el nèctar produït dins l'esperó. Atès el baix nombre de plantes disponibles i la limitació de temps per visitar la població contínuament, les mesures de nèctar es van fer en flors embossades (en poncella) per a l'estudi de les taxes d'autogàmia, que van romandre en bosses de tul diversos dies, en funció del seu ritme d'eclosió. El nèctar es va mesurar quan es va obrir la flor, en estadi masculí, ja que és una planta proteràndrica. El volum es mesura amb micro-pipeta i la concentració de sucres amb un refractòmetre de camp. La quantitat de sucre del nèctar es calcula multiplicant el volum extret (en  $\mu\text{L}$ ) per la concentració (mg sucre / mg solució) llegida al refractòmetre.

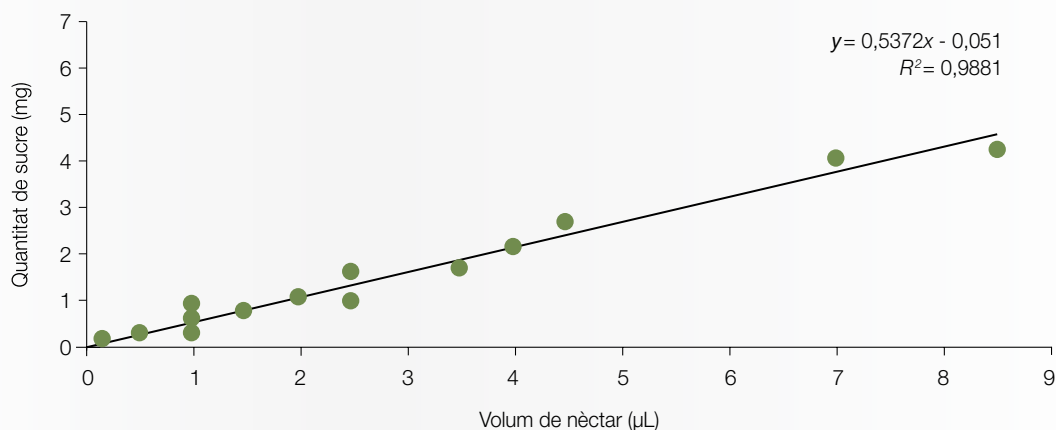
### Resultats i discussió

Al Parc cada flor produeix de mitjana 2  $\mu\text{L}$  de nèctar, una concentració del 40 % i 1,09 mg de sucre, més baix que en altres poblacions de *D. bolosii* (BOSCH, 1999) (gràfic 1). Cal dir que la producció de nèctar és molt variable en funció de molts factors, com les condicions ambientals (pluja, calor, vent), l'estadi de la flor, la posició en la inflorescència, etc. que fa difícil la comparació. Segurament surt més baix perquè les flors usades a MUR eren més incipients i s'ha vist que com més desenvolupades, més nèctar contenen (BOSCH, 1999).

**Gràfic 1. Producció de nèctar (mitjana  $\pm$  error estàndard [barra curta]  $\pm$  desviació estàndard [barra llarga]) en diferents poblacions (codis: taula 1) de *D. bolosii*: A) volum, B) concentració de sucre i C) quantitat de sucre**



S'ha detectat una gran correlació ( $R^2 = 0,98$ ) entre el volum de nèctar i la quantitat de sucre produït per flor (gràfic 2).

**Gràfic 2. Relació entre el volum i la quantitat de sucre del nèctar en la població de *D. bolosii* del Parc (MUR)**

## Sistema reproductiu: relació P/O

La relació P/O, proporció entre grans de pol·len i primordis seminals d'una flor, és un paràmetre indicatiu del sistema reproductiu d'un tàxon, com va demostrar CRUDEN (1977) en partir de l'anàlisi de 80 espècies, en el qual va proposar uns valors per a cada sistema reproductiu. Valors baixos s'atribueixen a plantes clistògames o autògames, on les pèrdues de pol·len són mínimes, mentre que valors alts denoten plantes al·lògames. Per fer-ne la mesura es van fixar deu poncelles en alcohol de 70°. Amb una lupa es compten els estams i primordis per flor. Per comptar el pol·len per antera, valor força alt, cal fer una dilució. Una antera madura no dehiscent s'esquinça i es buida en 200 µL d'aigua destil·lada. S'agita amb vòrtex per mantenir el pol·len en suspensió, se'n prenen 5 µL i es diposita en un portaobjectes. Es compta tot el pol·len al microscopi i es calcula la quantitat total per antera considerant la dilució feta.

## Resultats i discussió

El nombre d'estams de *D. bolosii* al Parc (MUR) és semblant al d'ULL, però més alt que a RBO ( $F_{2,27} = 26,67$ ,  $P = 0,000$ ) (taula 3). Pel que fa als primordis, no hi ha diferències entre poblacions ( $F_{2,27} = 0,02$ ,  $P = 0,97$ ). En canvi, la producció de pol·len per antera és força més gran al Parc que a la resta ( $F_{2,27} = 11,54$ ,  $P = 0,0002$ ), i dispara la producció pol·línica per flor ( $F_{2,27} = 14,44$ ,  $P = 0,0001$ ) i la relació P/O ( $F_{2,27} = 25,8$ ,  $P = 0,000$ ), amb un valor de 7.412, que indica un sistema reproductiu al·lògam estricte, mentre que RBO i ULL són al·lògams facultatius (taula 3), com les dues subespècies de *D. fissum* (BOSCH, 1999).

**Taula 3. Estudi de la relació P/O al Parc i en diferents poblacions de *D. bolosii* (Bosch, 1999)**

Tàxon	Nombre d'estams	Nombre de primordis	Pol·len/antera	Pol·len/flor	Relació P/O	Sist. repr.
<i>D. bolosii</i> (MUR)	35,8 ± 0,6 (32-38)	30,9 ± 1,4 (23-38)	6.414 ± 541 (2.893-8.787)	231.640 ± 21.519 (92.587-333.893)	7.412,4 ± 498,1 (3.306,7-8.786,7)	AO
<i>D. bolosii</i> (RBO)	30,3 ± 0,7 (27-34)	31,4 ± 2,2 (21-41)	4.001 ± 294 (2.812-5.804)	121.923 ± 10.221 (75.924-179.792)	3.889,3 ± 177,8 (3.180,8-4.859,2)	AF
<i>D. bolosii</i> (ULL)	36,9 ± 0,7 (35-40)	30,9 ± 1,8 (21-38)	4.453 ± 188 (3.700-5.478)	164.052 ± 22.753 (134.964-208.164)	5.427,8 ± 267,4 (3.908,3-6.452,9)	AF

En cada cas, s'indica la mitjana ± error estàndard i l'interval de les mesures. Sist. repr: sistema reproductiu;

AO: al·logàmia obligada; AF: al·logàmia facultativa.

Codis de població: [taula 1](#).

No es descarta que aquestes diferències tan marcades de pol·len al Parc amb la resta puguin deure's a un cert biaix metodològic, per l'ús del vòrtex o de micropipetes més modernes. Si no és això, costa més d'interpretar i es plantegen diverses hipòtesis: a) més disposició de recursos (les poncelles usades eren de la base de la inflorescència); b) relacionat amb la funcionalitat del sistema reproductiu, perquè calgui més pol·len per obtenir les mateixes granes, per una estratègia d'assegurament en condicions de pocs aparellaments disponibles per la mida petita de la població o per la necessitat de produir més recompensa per mantenir la fauna pol·linitzadora, i c) per un canvi adaptatiu, com el trobat en altres plantes endèmiques mediterrànies d'àrea reduïda i limitació de recursos, per compensar problemes de reducció de la fertilitat maternal (LAVERGNE *et al.*, 2004). Caldrà aprofundir més en la repartició dels recursos masculins-femenins. En tot cas, la relació P/O és una mesura orientativa que referma la idea de la necessitat d'un sistema de pol·linització encreuada.

## Sistema reproductiu: dependència dels pol·linitzadors

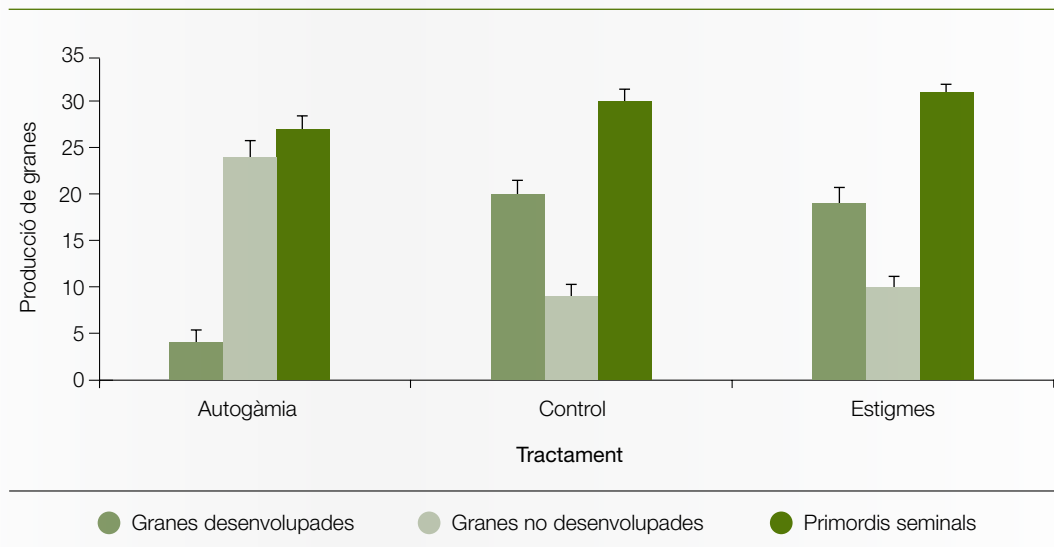
Per avaluar el grau de dependència dels pol·linitzadors per a la producció de llavors (capacitat d'autogàmia espontània) de la població del Parc, s'han embossat una trentena de poncelles i s'han comparat amb flors de control de les mateixes plantes sense embossar, per tant, de pol·linització lliure. En cada flor s'ha quantificat la producció de llavors per estimar-ne l'èxit reproductiu i, en una trentena més, procedents de l'estudi de les càrregues pol·líniques dels estigmes, en el qual s'han tallat els estigmes 24 h després de la pol·linització (vegeu-ne els detalls més endavant). S'han usat preferentment flors basals, que maduren primer, fan més granes i més desenvolupades, per assegurar que fructifiquin sense limitació de recursos (Bosch, 1999).



## Resultats i discussió

Les flors de *D. bolosii* al Parc poden produir llavors en absència de pol·linitzadors (gràfic 3), tot i que en menys quantitat (3 llavors de mitjana, interval 0-18, 12 % dels primordis) i genèticament més empobrides que les procedents de pol·linització lliure (22 llavors, interval 12-34, 74 % dels primordis) ( $F_{2,89} = 63,87, P = 0,000$ ). En la comparació per parells no es detecten diferències significatives entre les flors de control exposades als pol·linitzadors i les flors a les quals se'ls han tret els estigmes per mesurar el pol·len dipositat (21 llavors, interval 4-29, 68 % dels primordis), cosa que indica que aquest experiment no afecta la producció final si es fa com a mínim 24 h després de la pol·linització. Aquests resultats corroboren els inferits de la relació P/O de la necessitat de pol·linització encreuada.

**Gràfic 3. Producció de granes (mitjana ± error estàndard) en les proves d'embossament (autogàmia = flors embossades; control = flors no embossades) i en l'estudi de les càrregues pol·líniques estigmàtiques (estigmes) de la població de *D. bolosii* del Parc (MUR)**



## Biologia de la pol·linització

L'estudi dels visitants florals i pol·linitzadors potencials de *D. bolosii* al Parc i la quantificació de la freqüència de visites (nombre d'aproximacions, de plantes i flors visitades), es va fer mitjançant censos de quinze minuts, repetits diverses vegades al llarg del dia (de 10 a 16 h), en quatre dies diferents (en total, 44 censos). Es va observar el comportament sobre la flor per diferenciar els veritables pol·linitzadors dels robadors, dels accidentals o dels depredadors. Es mira per on aterren a la flor, per on entren, quins moviments fan, quant temps hi romanen, quina recompensa cerquen, quantes flors visiten, el model de vol i a quina nova planta van. Se'n van capturar alguns exemplars, amb vapors d'acetat d'etil, per a la seva identificació,

en algun cas, amb l'ajut d'especialistes. Els testimonis capturats s'han dipositat al Laboratori de Botànica (Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, Universitat de Barcelona). Les plantes entomòfiles en floració simultània (possibles competidores) en la població són: *Hypericum perforatum*, *Ononis natrix*, *Ramonda myconi*, *Sedum dasyphyllum* i *Teucrium polium* subsp. *polium*.

## Resultats i discussió

S'ha detectat una gran variabilitat d'insectes que visiten *D. bolosii* al Parc, que pertanyen a cinc ordres: himenòpters, lepidòpters, dípters, coleòpters i heteròpters (taula 4, figura 2) i s'ha quantificat, per a cada espècie, el nombre total d'aproximacions al rodal, el nombre total de plantes i flors visitades en cada aproximació i el nombre mitjà de flors visitades per planta, així com els percentatges de cada paràmetre i el tipus de recompensa que cerquen.

*Gonepteryx cleopatra* ha estat l'espècie més freqüent (amb un 53 % de les aproximacions i més de 1.830 flors visitades, el 42 % del total), seguit pels himenòpters, sobretot diverses espècies de *Bombus* (18 % de les aproximacions i un total de 1.158 flors visitades, 26,9 %) i *Anthophora* (12 % i 1.135 flors, 26,4 %). Atès que visitaven de mitjana més flors per planta (5-6) que les papallones (2,6), van visitar en conjunt moltes més flors (53 % del total). A més, són més efectius que les papallones perquè, tot i que cerquen bàsicament nèctar, aterren amb el seu cos més corpulent sobre els pètals laterals, separant-los (els estams es troben estratègicament situats a sota), mentre que les papallones, més lleugeres, no arriben a separar els pètals laterals. També hi van petites abelles solitàries, majoritàriament del gènere *LasioGLOSSUM*, però també *Halictus*, *Anthidium* i *Hoplitis*, més ocasionals, un bombílid del gènere *Bombylius* (2,5 % de les aproximacions i 99 flors visitades, un 2 %), que busca nèctar i segurament tan poc efectiu com les papallones, així com alguns sírfids, coleòpters i heteròpters ocasionals, que cerquen pol·len. No s'ha detectat robatori de nèctar a les flors de *D. bolosii* del Parc, és a dir, presència d'esperons perforats per visitants florals que l'extreuen sense contactar els estams i, per tant, sense pol·linitzar, fenomen notable en altres poblacions, amb més incidència els anys més secs (dades inèdites).

Si es comparen els pol·linitzadors amb els d'altres poblacions de *D. bolosii* en altres períodes (1992-1993, BOSCH, 1999; i 2002, ORELLANA *et al.*, 2008), s'observen fluctuacions entre anys i indrets, molt relacionades amb la fauna local. Destaca l'absència de visites de *Macroglossum stellatarum* en la població del Parc, molt present a RBO; en canvi, la papallona *Gonepteryx cleopatra*, l'espècie més freqüent al Parc, també ho és a ULL. Pel que fa als abellots del gènere *Bombus*, a RBO i ULL algunes espècies com *B. terrestris* sovint actuen com a robadors de nèctar (*B. pascuorum* té un comportament legítim); en canvi, al Parc mai no s'ha vist aquest comportament, com tampoc en poblacions de *D. fissum* subsp. *sordidum* a Sala-

manca el mateix any que aquest estudi (2014), on *B. terrestris* va ser el visitant més freqüent (72 % de les visites) (RAMÍREZ-RODRÍGUEZ i AMICH, 2017).

El nombre mitjà d'aproximacions per cens i la quantitat de flors obertes per dia van anar augmentant al llarg dels dies de censos (gràfic 4), cosa que va revelar un efecte d'atractivitat important.

**Taula 4. Visitants florals i pol·linitzadors potencials de la població de *D. bolosii* del Parc (MUR)**

Espècie	R	Aprox.	(%)	Total plantes	(%)	Total flors	(%)	Nre. flors/planta
Hymenoptera		84	34,9	444	37,3	2.341	54,4	3,5
<b>Apidae</b>								
<i>Bombus terrestris</i> L.	N	18	7,5	81	6,8	504	11,7	6,2
<i>Bombus pascuorum</i> Scopoli	N	11	4,6	27	2,3	121	2,8	4,5
<i>Bombus pascuorum</i> Scopoli*	N	14	5,8	104	8,7	533	12,4	5,1
<i>Apis mellifera</i> L.	N + P	1	0,4	2	0,2	6	0,1	3
<b>Anthophoridae</b>								
<i>Anthophora biciliata</i> Lepeletier	N	19	7,9	162	13,6	932	21,7	5,8
<i>Anthophora femorata</i> Olivier	N	8	3,3	45	3,8	196	4,6	4,4
<i>Anthophora mucida</i> Gribodo	N	2	0,8	3	0,3	5	0,1	1,7
<i>Xylocopa violacea</i> L.	N	2	0,8	3	0,3	7	0,2	2,3
<b>Megachillidae</b>								
<i>Anthidium</i> sp.	N	3	1,2	6	0,5	14	0,3	2,3
<i>Hoplitis claviventris</i> Thomson	N + P	1	0,4	1	0,1	1	0,0	1
<b>Halictidae</b>								
<i>Lasioglossum</i> sp.	P			no mesurat, molts				
<i>Halictus scabiosae</i> Rossi	P	5	2,1	10	0,8	22	0,5	2,2
<i>Lepidoptera</i>		142	58,9	710	59,7	1.854	43,1	1,4
<b>Pieridae</b>								
<i>Gonepteryx cleopatra</i> L. / <i>Gonepteryx rhamni</i> L.	N	130	53,9	696	58,5	1.835	42,6	2,6
<i>Pieris brassicae</i> L.	N	1	0,4	1	0,1	1	0,0	1

<b>Lycaenidae</b>								
<i>Polyommatus icarus</i> Rottemburg	N	9	3,7	11	0,9	16	0,4	1,5
<b>Satyridae</b>								
<i>Pyronia bathseba</i> Fabricius	N	1	0,4	1	0,1	1	0,0	1
<b>Hesperiidae</b>								
<i>Thymelicus sylvestris</i> Poda	N	1	0,4	1	0,1	1	0,0	1
Diptera		11	4,6	31	2,6	105	2,4	1,6
<b>Bombyliidae</b>								
<i>Bombylius</i> sp.	N	6	2,5	25	2,1	99	2,3	4
<i>Anthrax</i> sp.	P	1	0,4	1	0,1	1	0,0	1
<b>Syrphidae</b>								
<i>Meliscavea auricollis</i> Meigen	P	2	0,8	3	0,3	3	0,1	1
<i>Sphaerophoria scripta</i> L.	P	1	0,4	1	0,1	1	0,0	1
<i>Eristalis tenax</i> L.	P	1	0,4	1	0,1	1	0,0	1
Coleoptera		2	0,8	2	0,2	2	0,0	1,0
<b>Meloidae</b>								
<i>Mylabris quadripunctata</i> L.	P	1	0,4	1	0,1	1	0,0	1
<b>Scarabeidae</b>								
<i>Oxythyrea funesta</i> L.	P	1	0,4	1	0,1	1	0,0	1
Heteroptera		2	0,8	2	0,2	2	0,0	1
No identificat	P	2	0,8	2	0,2	2	0,0	1
<b>Total</b>		<b>241</b>		<b>1.189</b>		<b>4.304</b>		

R: tipus de recompensa, N: nèctar, P: pol·len; Aprox.: nombre d'aproximacions a les plantes; Total plantes: nombre de plantes visitades; Total flors: nombre de flors visitades; Nre. flors/planta: mitjana de flors visitades per planta.

\* *B. pascuorum* més gran i de color més esmorteït, que a priori semblava una espècie diferent.

Dates dels censos: 19/6/2014, 23/6/2014, 26/6/2014 i 1/7/2014. Temps d'observació: 11 h (44 censos de 15 minuts).

**Figura 2.** Imatges de visitants florals i pol·linitzadors potencials de la població de *D. bolosii* del Parc (MUR). A) *Bombus terrestris*; B) *Bombus pascuorum*; C) *Anthophora femorata*; D) *Halictus scabiosae*; E) *Gonepteryx cleopatra*; F) *Bombylius* sp.; G) *Mylabris quadripunctata*; H) *Oxythyrea funesta*

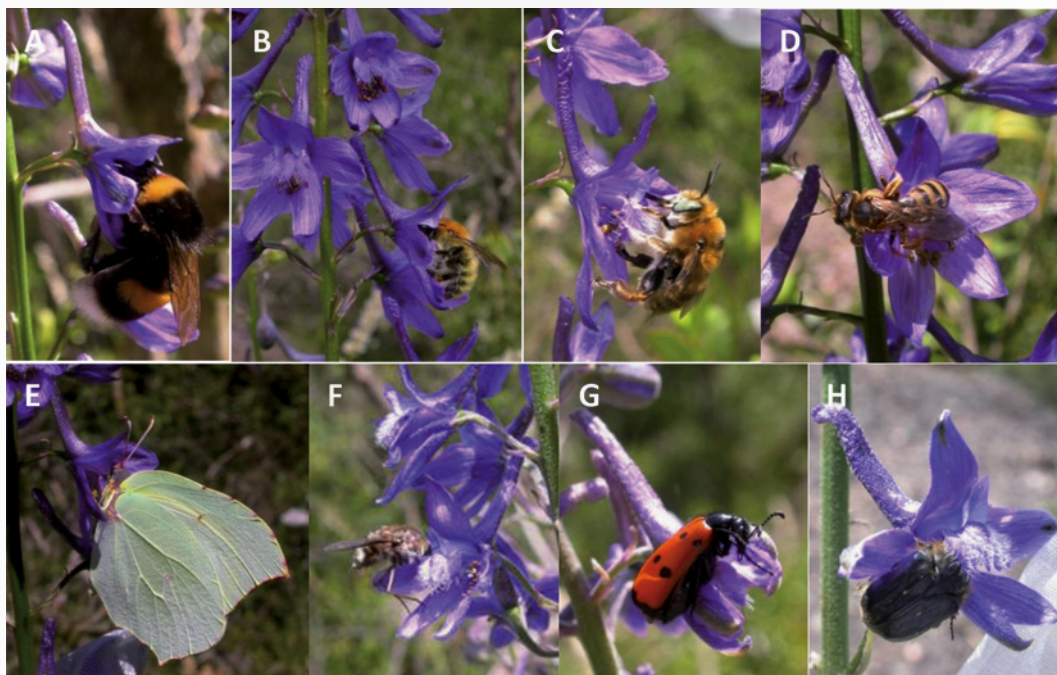
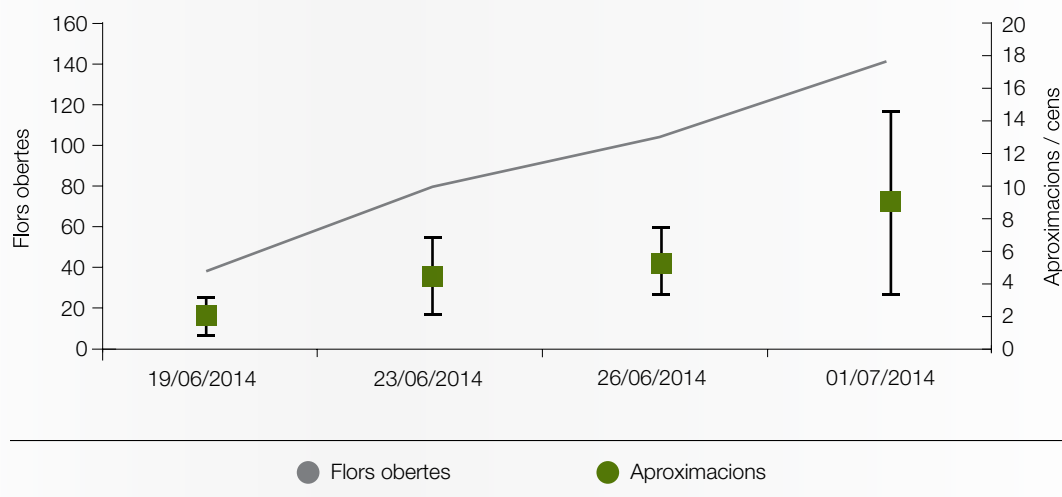


Foto: M. Bosch.

**Gràfic 4.** Relació entre el nombre d'aproximacions (mitjana  $\pm$  desviació estàndard) per cens i la quantitat de flors obertes de la població de *D. bolosii* del Parc (MUR)



## Càrregues pol·líniques estigmàtiques

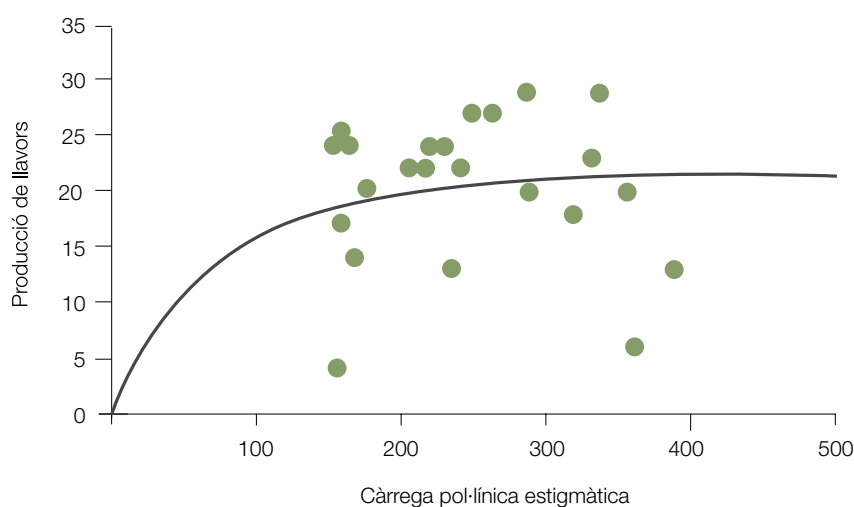
Per valorar el grau d'especificitat i l'eficàcia dels pol·linitzadors s'ha estudiat el pol·len dipositat als estigmes. Permet esbrinar la quantitat de pol·len conspècific i he-

teroespecífic que pot saturar-los, la qual cosa redueix la producció de llavors si n'hi ha molt d'heteroespecífic (cosa que indica vectors generalistes). Per fer-ho es col·lecten estigmes pol·linitzats recentment de flors en què ja s'han després les peces florals (cauen l'endemà de l'arribada del pol·len a l'estigma). Si es tallen per la zona de l'estil 24 h després de la pol·linització, no s'afecta la producció de llavors, atès que ja s'han format els tubs pol·línics i fecundat els primordis seminals (BOSCH i WASER, 1999). En els estigmes només queden les cobertes pol·líniques. Es munten en portaobjectes, tenyits amb fucsina glicerina (KEARNS i INOUE, 1993). En les mateixes flors, quan els fruits són madurs, es valora la producció de llavors. S'ha assajat la relació dosi-resposta entre el pol·len dipositat als estigmes i la producció de llavors per flor usant una regressió no lineal (mètode d'estimació Marquardt), que s'ajusta a una funció exponencial negativa amb la fórmula:  $\text{pol·len} = a (1 - \exp \{-b \cdot \text{llavors}\})$ , en què la  $a$  estima el màxim asimptòtic de llavors i  $b$  la proporció d'aproximació a l'asíptota.

## Resultats i discussió

La quantitat de pol·len dipositat als estigmes de l'esperó de Bolòs al Parc (MUR) ha estat de mitjana de  $248,1 \pm 14,5$  grans de pol·len (155-387,  $N = 26$ ), molt semblant al nombre mitjà trobat a les dues poblacions de l'espècie (RBO i ULL) juntes: 245 (19-871,  $N = 100$ ), tot i que presentaven diferències entre elles (ORELLANA *et al.*, 2008). La quantitat de pol·len heteroespecífic ha estat molt baixa, de l'1 %, atribuïble només a *Sedum dasyphyllum*, més baixa que a les altres dues poblacions (3 % a RBO i 8 % a ULL; ORELLANA *et al.*, 2008). Aquests resultats poden ser deguts a l'escassa presència d'altres plantes florides simultàniament en la població del Parc.

**Gràfic 5. Relació dosi-resposta de la quantitat de pol·len dipositat sobre els estigmes i la producció de llavors de la població de *D. bolosii* del Parc (MUR). L'equació de la funció és  $y = 21,80 (1 - \exp \{-0,014x\})$ ,  $R^2 = 0,0284$**



La relació dosi-resposta del pol·len dipositat als estigmes amb la producció de granes per flor (gràfic 5) s'ajusta a la funció  $y = 21,80 (1 - \exp\{-0,014x\})$ ; el valor de  $R^2$  indica que només explica el 2,84 % de la variació. A partir d'un punt (unes 21 llavors), per molt pol·len que arribi als estigmes no es produiran més granes i s'haurà assolit el nivell de saturació; la xifra permet deduir que hi ha un «excés» de pol·linització o un llindar de seguretat molt alt (200-400 pòl·lens per flor) que assegura la disponibilitat de donadors per a la reproducció sexual.

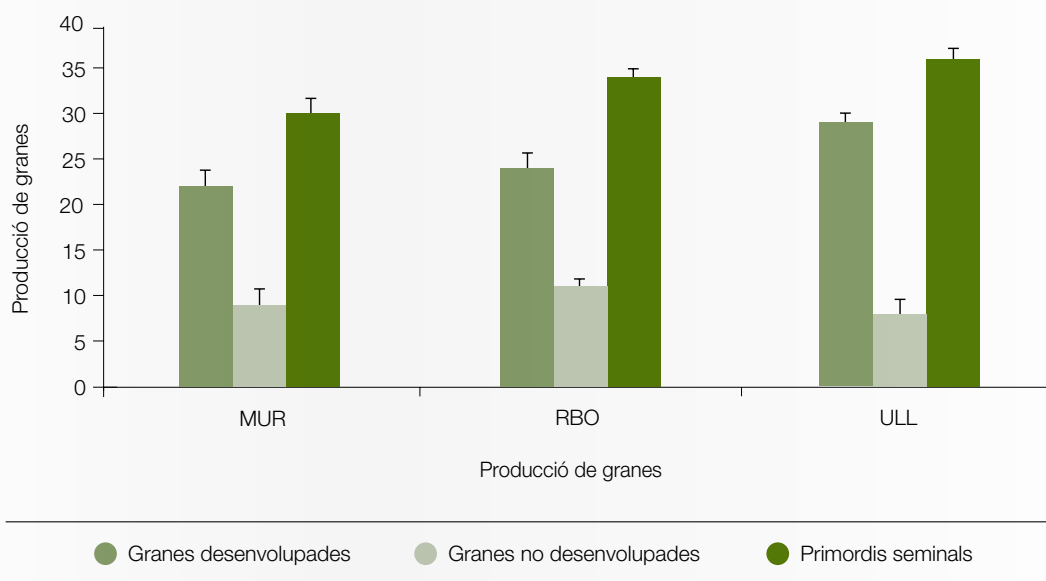
## Èxit reproductiu

L'èxit reproductiu s'ha valorat comptant la producció de llavors en una trentena de flors de plantes diferents, quan les llavors eren madures i a punt de dispersar. Un cop fet, s'han dipositat prop dels exemplars, per reduir al màxim l'impacte de la recerca en la població.

## Resultats i discussió

La producció mitjana de fruits al Parc és del 50,4 %, amb oscil·lacions del 0-80 %. La fructificació en altres poblacions durant el període 2001-2006 (projecte AFA, BOSCH *et al.*, 2009) va variar entre 8-62 % a RBO i 25-57 % a ULL (dades inèdites), molt relacionat amb la disponibilitat d'aigua i, per tant, al Parc és força alta, però dins la variació de l'espècie.

**Gràfic 6. Producció de llavors (mitjana  $\pm$  error estàndard) per flor de pol·linització lliure al camp en diferents poblacions (codis: taula 1) de *D. bolosii* (BOSCH, 1999)**



La producció de llavors al Parc és força alta, un 73,9 %, amb 22 llavors de mitjana per flor (gràfic 6), semblant a la d'altres poblacions de *D. bolosii* (BOSCH, 1999), tot i que les anàlisis estadístiques ( $F_{2,131} = 8,25$ ,  $P = 0,0004$ ) mostren diferències significatives, i a ULL és més alta. Pel que fa als primordis seminals, en aquesta mostra al Parc és inferior que les altres ( $F_{2,131} = 8,09$ ,  $P = 0,0005$ ); tot i així, en l'estudi dels primordis per a la relació P/O (taula 3), fet en flors diferents, no s'han trobat diferències significatives entre poblacions.

### Altres interaccions biològiques

Durant l'estudi dels pol·linitzadors es va detectar la presència d'una aranya cranc (*Misumena vatia*, un tomísid), que viu a les flors de *D. bolosii* per caçar visitants florals. És molt mimètica amb les flors, ja que les potes són del mateix color verd-lilós que els estils, els estigmes o els bractèoles del pedicel (figura 3), fins i tot s'assembla als estams quan es desprenen les peces florals una vegada pol·linitzada la flor. Una altra interacció vista va ser la presència en algunes fulles d'un fong (un rovell fúngic), un quitridiomicet, *Synchytrium aureum*, que les assecava. Només es va observar un any, però caldria seguir-ne i estudiar-ne els efectes.

Figura 3. Imatges de l'aranya cranc *Misumena vatia* en les flors de *D. bolosii* al Parc



Foto: M. Bosch.



## Conclusions

1. Es demostra una total normalitat de la morfologia, les dimensions del sistema d'atracció floral i producció de flors, així com una producció suficient de recompenses florals (pol·len i nèctar).
2. Pel que fa al sistema reproductiu, segons la relació P/O és al·lògama estricta. Tot i que *D. bolosii* al Parc pot fer llavors en absència de pol·linitzadors (autocompatible), però poques i de baixa qualitat, els resultats indiquen una forta dependència dels pol·linitzadors per a l'èxit reproductiu i manteniment a llarg termini de la població.
3. Els estudis de la pol·linització mostren una funcionalitat perfecta del transport de pol·len per mitjà de vectors biòtics al Parc. Probablement degut al bon estat dels hàbitats, s'ha trobat una gran variabilitat d'insectes que visiten les flors de cinc ordres. A part d'un nombre destacat de visitants de mida petita (gènere *Lasioglossum* i afins), la papallona *Gonepteryx cleopatra* ha estat la més freqüent, amb un 53 % de les aproximacions i un 42 % de flors visitades, seguida pels himenòpters, bàsicament diverses espècies d'abellots i abelles (*Bombus*, 18 %, i *Anthophora*, 12 % d'aproximacions, i entre tots dos, 53 % de flors visitades), més efectius en el transport que els lepidòpters. No s'ha detectat robatori de nèctar.
4. S'han observat altres interaccions biòtiques amb *D. bolosii* al Parc, com l'establiment sobre algunes flors d'una aranya cranc (*Misumena vatia*, tomísid) o la presència d'un rovell fúngic (*Synchytrium aureum*, quitridiomicet), que infecta alguns rodals i que caldrà seguir.
5. Una producció mitjana de fruits del 50,4 % i de 22 llavors per flor (73,9 % dels primordis), semblant a altres poblacions, indica un bon funcionament dels paràmetres d'èxit reproductiu, que és el resultat final, integrador de totes les etapes de la reproducció sexual.

**Implicacions per a la conservació:** bon pronòstic de la pervivència de *D. bolosii* al Parc en l'aspecte reproductiu, que funciona correctament; és important, però, la conservació sinèrgica de tota la biodiversitat que interactua amb la planta al Parc per al seu manteniment.

## Agraïments

Al personal del Parc Natural (A. Miño i J. Torrentó) i de la Gerència de Serveis d'Espais Naturals (C. Castell i D. Carrera) pel suport en l'elaboració del treball.

Al DTS de la Generalitat de Catalunya per l'autorització de treball amb l'espècie. Al doctor J. Bosch (CREAF, UAB), al doctor L. Castro (Terol) i al doctor F. J. Ortiz (Universidad de Almería) per la identificació d'alguns himenòpters; al doctor C. Ribera (UB), d'un aràcnid, i al doctor A. Gómez-Bolea (UB), d'un fong. Aquest estudi forma part d'un conveni entre la Gerència de Serveis d'Espais Naturals de la Diputació de Barcelona i la Fundació Bosch i Gimpera de la UB (FBG 307801).

## Bibliografia

- BLANCHÉ, C.; BOSCH, M.; LÓPEZ-PUJOL, J.; MASSÓ, S.; SIMON, J.; ROVIRA, A. M.; MOLERO, J. (2014): «Caracterització biològica i citogenètica de la població re-trobada de l'esperó de Bolòs (*Delphinium bolosii*) al Parc Natural de Sant Llorenç del Munt i l'Obac». A: *VIII Monografies de Sant Llorenç del Munt i l'Obac*. Barcelona: Diputació de Barcelona; p. 197-207.
- BOSCH, M. (1999): *Biologia de la reproducció de la tribu Delphinieae a la Mediterrània occidental*. Barcelona: Institut d'Estudis Catalans. 375 pàgines. (Arxius de la Secció de Ciències, núm. 120).
- BOSCH, M.; MAMPEL, A.; BACHS, I.; ROVIRA, A. M.; MOLERO, J., LÓPEZ-PUJOL, J.; MASSÓ, S.; SIMON, J.; BLANCHÉ, C. (2018): «Seguiment demogràfic i verificació de la variabilitat cromosòmica de l'esperó de Bolòs (*Delphinium bolosii*) al Parc Natural de Sant Llorenç del Munt i l'Obac». A: *IX Monografies de Sant Llorenç del Munt i l'Obac*. Barcelona: Diputació de Barcelona (en aquest mateix volum).
- BOSCH, M.; ORELLANA, M. R.; LÓPEZ-PUJOL, J.; ROVIRA, A.; MARTINELL, M. C.; BLANCHÉ, C.; DOMÍNGUEZ, F.; ALBERT, M. J. (2009): «*Delphinium bolosii* C. Blanché & Molero». A: IRIONDO, J. M.; ALBERT, M. J.; GIMENEZ-BENAVIDES, L.; DOMINGUEZ, F.; ESCUDERO, A., *Poblaciones en peligro: Viabilidad demográfica de la Flora Vasculare Amenazada de España*. Madrid: Dirección General de Medio Natural y Política Forestal. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino; p. 145-147.
- BOSCH, M.; WASER, N. M. (1999): «Effects of local density on pollination and reproduction in *Delphinium nuttallianum* and *Aconitum columbianum* (Ranunculaceae)». *American Journal of Botany*, núm. 86 (6); p. 871-879.
- CRUDEN, R. W. (1977): «Pollen-ovule ratios: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants». *Evolution*, núm. 31; p. 32-46.
- KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. (1993): *Techniques for pollination biologists*. Niwot, Colorado: University Press of Colorado. 583 pàgines.
- LAVERGNE, S.; THOMPSON, J. D.; GARNIER, E.; DEBUSSCHE, M. (2004): «The biology and ecology of narrow endemic and widespread plants: a comparative study of trait variation in 20 congeneric pairs». *Oikos*, núm. 107; p. 505-518.

- LÓPEZ-PUJOL, J.; BOSCH, M.; MASSÓ, S.; MOLERO, J.; SIMON, J.; ROVIRA, A. M.; BLANCHÉ, C. (2014): «Estudi preliminar de variabilitat isoenzimàtica de *Delphinium bolosii* al Parc Natural de Sant Llorenç del Munt i l'Obac». A: *VIII Monografies de Sant Llorenç del Munt i l'Obac*. Barcelona: Diputació de Barcelona; p. 208-218.
- MOLERO, J.; ROVIRA, A. M.; SIMON, J.; LÓPEZ-PUJOL, J.; MASSÓ, S.; BOSCH, M.; BLANCHÉ, C. (coord.) (2014): *Criteris i propostes de gestió a partir de l'estudi de biologia reproductiva de Delphinium bolosii al Parc Natural de Sant Llorenç de Munt i l'Obac*. Document tècnic inèdit. Barcelona: Diputació de Barcelona – Fundació Bosch i Gimpera (UB). 95 pàgines.
- ORELLANA, M. R.; ROVIRA, A. M.; BLANCHÉ, C.; BOSCH, M. (2008): «Effects of local abundance on pollination and reproduction in the narrow endemic endangered species *Delphinium bolosii* (Ranunculaceae)». *Orsis*, núm. 23; p. 27-46.
- PÉREZ-RAVENTÓS, J.; HERNÁNDEZ-CARDONA, À. M. (2013): «L'esperó de Bolòs, una planta endèmica de Catalunya, retrobada a Sant Llorenç del Munt i l'Obac». *Vacarisses, Balcó de Montserrat*, núm. 534; p. 26-29.
- RAMÍREZ-RODRÍGUEZ, R.; AMICH, F. (2017): «Effects of local abundance on pollination and reproduction in *Delphinium fissum* subsp. *sordidum* (Ranunculaceae)». *Botany Letters*, núm. 164 (4); p. 371-383.
- SÁEZ, L.; AYMERICH, P.; BLANCHÉ, C. (2010): *Llibre Vermell de les plantes vasculars endèmiques i amenaçades de Catalunya*. Barcelona: Argania. 255 pàgines.