



Universidad Nacional de Rosario
Facultad de Ciencias Agrarias
Licenciatura en Recursos Naturales

Rol del servicio de la polinización en el cultivo de soja

Tesinista: Mariano Roque Craviotto

Directora: Lic. Mariana Paola Mazzei

Co-director: Ing. Agr. Dr. José Luis Vesprini

Facultad de Ciencias Agrarias (UNR) – Zavalla, Santa Fe

2023

ÍNDICE

RESUMEN.....	3
INTRODUCCIÓN.....	5
HIPÓTESIS	8
OBJETIVOS.....	8
OBJETIVO PRINCIPAL.....	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
ÁREA DE ESTUDIO Y MATERIAL VEGETAL DE TRABAJO.....	9
TRATAMIENTOS	10
VISITANTES FLORALES / POLINIZADORES	11
COSECHA DE PLANTAS	13
VARIABLES DE PRODUCTIVIDAD.....	13
CALIDAD DE SEMILLAS	13
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	15
RESULTADOS	16
VISITANTES FLORALES / POLINIZADORES	16
VARIABLES DE PRODUCTIVIDAD.....	21
CALIDAD DE SEMILLAS	23
DISCUSIÓN.....	27
VISITANTES FLORALES / POLINIZADORES	27
VARIABLES DE PRODUCTIVIDAD.....	31
CALIDAD DE SEMILLAS	33
CONCLUSIONES.....	35
BIBLIOGRAFÍA	37

RESUMEN

La polinización entomófila es un servicio ecosistémico de regulación clave para el desarrollo de semillas en muchas plantas con flor. Estudios previos demuestran que la acción de polinizadores aumenta la producción de frutos y semillas incluso en especies autógamas como lo es la soja. En esta tesina se abordó la diversidad específica de insectos polinizadores y de patógenos en semillas posiblemente asociados a la polinización. Se capturaron insectos por medio de trampas pan traps y se realizaron muestreos de visitas en flores. Se aplicaron tratamientos de exclusión de polinizadores, y se evaluó la influencia en variables de productividad (peso de frutos, número de frutos y peso de semillas), cantidad de semillas normales y vanas, la calidad de las semillas (cantidad de proteínas y lípidos), peso de plantas, y la presencia de patógenos en semillas provenientes de ambos tratamientos de polinización.

Fueron capturadas 12 morfoespecies de polinizadores dentro del cultivo. De las morfoespecies de abejas halladas seis son potenciales polinizadores de la soja según bibliografía, y entre ellas la familia Halictidae fue la más abundante. No se registraron visitas a las flores durante los periodos de muestreo, lo que sugiere una tasa de visitas muy baja. Las diferencias halladas no fueron estadísticamente significativas en ninguna de las variables de productividad ni de calidad de semillas entre tratamientos. Fueron hallados 12 patógenos fúngicos, dentro de los cuatro más abundantes, los géneros *Phomopsis*, *Alternaria*, y *Cercospora* tuvieron una abundancia levemente mayor en las plantas a las cuales los polinizadores no tuvieron acceso, mientras que *Cladosporium* fue mayor en plantas expuestas ($p=0,009$). El hecho que la mayoría de los patógenos fúngicos se encuentren en plantas a las que no tuvieron acceso los polinizadores indica que éstos no estarían actuando como agentes dispersores de esporas de la mayoría de ellos.

La fauna polinizadora está presente como lo demuestran las capturas en las trampas pero la tasa de visitas a las flores fue muy baja, lo que puede explicar la falta de significancia estadística en los tratamientos de polinización.

Palabras clave: abejas, patógenos, polinización, servicio ecosistémico, soja

ABSTRACT

Entomophilous pollination is a key regulatory ecosystem service for seed development in many flowering plants. Previous studies show that the action of pollinators increases fruits and seed production even in self-pollinated species such as soybean. This study focused on the diversity of insect pollinators and seed pathogens possibly associated with pollination. Insects were registered on soybean flowers and were captured using pan traps. Pollinator exclusion treatments were applied, and the influence on productivity variables (fruit weight, fruits number and seeds weight), total normal seeds and total empty seeds, and seed quality (amount of proteins and lipids), plant weight, and the presence of pathogens in seeds from both pollination treatments were evaluated.

Twelve morphospecies of pollinators were captured in the crop. Six of found bees are potential soybean pollinators according to the literature, and the family Halictidae was the most abundant. No flower visits were recorded during the sampling periods, suggesting a very low visitation rate. The differences found were not statistically significant in any of the productivity or seed quality variables between treatments. Twelve fungal pathogens were found. Among the four most abundant the genera *Phomopsis*, *Alternaria*, and *Cercospora* were slightly more abundant on plants without pollinators, while *Cladosporium* was more abundant on plants with pollinators ($p=0.009$). The fact that more fungal pathogens were found on plants without pollinators indicates that pollinators would not be acting as spore dispersing agents for most of them.

The pollinator fauna was present as evidenced by trap captures but the rate of flower visits was very low, which may explain the lack of statistical significance in the pollination treatments.

Key words: bees, pathogens, pollination, ecosystem service, soybean

INTRODUCCIÓN

La polinización es un proceso ecosistémico clave para el desarrollo de las semillas en las plantas. Ésta consiste en la transferencia de granos de polen de los órganos masculinos de la flor a los femeninos de la misma flor, o entre flores, lo que hace posible la formación de frutos y semillas (Garibaldi et al., 2012). Durante la misma, el transporte del polen puede llevarse a cabo por el agua, viento o animales. La polinización entomófila, por medio de insectos, es un servicio ecosistémico de regulación fundamental para el bienestar humano, la agricultura, el mantenimiento de muchos otros procesos y funciones naturales de los ecosistemas y el mantenimiento de una gran diversidad de especies de plantas (IPBES, 2016; Kremen et al., 2002; Meléndez Ramírez et al., 2020). La misma es realizada principalmente por insectos (abejas, avispas, hormigas, moscas, mariposas y polillas). Además, muchos de los cultivos que forman parte esencial de nuestra alimentación dependen de los polinizadores para producir frutos y semillas (Sosenski & Domínguez, 2018). La polinización mediada por animales contribuye a la reproducción sexual de más del 90% de las aproximadamente 250.000 especies de angiospermas modernas (Kearns et al., 1998). Tal es así que 39 de los 57 principales cultivos del mundo aumentan la calidad o la cantidad de los frutos o las semillas gracias a los insectos polinizadores, siendo importantes en el 35% de la producción mundial de cultivos (Klein et al., 2006). Cabe destacar que los cultivos agrícolas varían en el grado de dependencia de la polinización animal, desde aquellos para los que la polinización animal es irrelevante, porque se autopolinizan o son polinizados por el viento (ej.: maíz, trigo, arroz) hasta los que dependen estrictamente de la polinización animal (ej.: algunas especies con flores unisexuales como las cucurbitas y kiwi, entre otros; Klein et al., 2006; Aizen & Harder, 2009). Se ha estimado que el 70% de los cultivos incrementa en mayor o menor medida su producción cuando sus flores son visitadas por polinizadores. La mayoría de los cultivos depende parcialmente de polinizadores cuya desaparición produciría una reducción de la producción. Ejemplos de dependencia parcial por esas razones son la mayoría de las oleaginosas (como girasol, canola y soja) y algunos frutales, tanto de zonas templadas (por ejemplo manzanas, duraznos, peras y ciruelas) como subtropicales y tropicales (entre ellos café, papaya, mango y palta). A pesar de esta dependencia incompleta, la reducción en el rendimiento de muchos de esos cultivos en ausencia de polinizadores puede superar el 50% (Garibaldi et al., 2012). Si bien la producción y la diversidad de la agricultura parecen depender en gran medida de la polinización biótica (Aizen et al., 2009) los fundamentos ecológicos y económicos de la mayoría de los servicios ecosistémicos son poco conocidos, lo que impide su conservación y gestión (Kremen et al., 2002).

En términos generales, el rendimiento de un cultivo depende del potencial productivo de la variedad, del ambiente de producción y del manejo que realiza el productor del lote implantado. Sin embargo, Garibaldi et al. (2016) demostraron que el rendimiento de los cultivos dependientes de la polinización entomófila disminuyó cuando la densidad de visitantes florales fue baja, y que los efectos de la densidad y la riqueza de visitantes de flores son muy significativos en el contexto de otras variables ambientales y de manejo que afectan el rendimiento. A pesar de la importancia de la polinización por insectos como servicio ecosistémico en los agroecosistemas, no se conoce bien el grado en que la falta de polinizadores está limitando la producción actual de los cultivos extensivos, especialmente en las zonas de producción intensiva como la Región Pampeana (Reilly et al., 2020; Santone et al., 2022). La disminución de los polinizadores en términos de abundancia y riqueza de especies se ha destacado como una cuestión importante debido al riesgo de que disminuya la polinización de los cultivos y la producción de los mismos (Potts et al., 2010; Dicks et al., 2016; IPBES, 2016; Santone et al., 2022; Zattara & Aizen, 2021). En las últimas décadas, los cultivos dependientes de los polinizadores se han expandido, por lo que la demanda de servicios de polinización está aumentando, al mismo tiempo que la abundancia y diversidad de los polinizadores ha disminuido. En un futuro próximo, estas tendencias opuestas amenazan el rendimiento de los cultivos a nivel global (Aizen et al., 2009). Este preocupante escenario exige una mejor información sobre las diferencias en el nivel de dependencia de los cultivos a los polinizadores y sus consecuencias para la productividad agrícola (Aizen et al., 2009). De hecho, la Plataforma Intergubernamental de Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos (IPBES, 2016) resalta en su documento “*Assesment report on pollinators, pollination and food production*” la importancia de comprender el papel de los polinizadores nativos e introducidos, las interacciones entre sí y su influencia en la agricultura sostenible.

Además, se ha reportado un efecto negativo del deterioro ambiental sobre la abundancia, la diversidad y la actividad de los polinizadores como consecuencia del avance de la agricultura, la destrucción del hábitat, el cambio del uso del suelo, el uso de agroquímicos (Dicks et al., 2016) como así también producto de la introducción de especies exóticas e invasoras, la transmisión de enfermedades y el cambio climático (Sosenski & Dominguez, 2018; Kremen et al., 2002).

La soja (*Glycine max* (L. Merr.)), es cultivada en todo el mundo en regiones templadas, subtropicales y tropicales. En el período 2020/21, el área cultivada representó en Argentina más de 16 millones de hectáreas según datos del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación (MAGyP, 2022). La soja es un cultivo anual cuyos frutos son vainas que

contienen entre una y cuatro semillas cada uno. Las flores de la soja pueden producir frutos en ausencia de polinizadores (es una especie autógena) aunque hay pruebas de reducciones de rendimiento cuando se excluyen las plantas en floración de los polinizadores (Erickson et al., 1978; Chiari et al., 2005; Milfont et al., 2013; Blettler et al., 2018; Santone et al., 2022). De hecho, se ha evidenciado que la abeja melífera (*Apis mellifera*) es un polinizador eficaz para algunas variedades de soja (Issa et al., 1984). Estos resultados apoyan la idea que la producción de este cultivo puede ser mejorada por los insectos polinizadores (Santone et al., 2022). Recientemente, se ha demostrado que la dependencia de la soja de los polinizadores disminuye latitudinalmente de forma más abrupta en latitudes extratropicales. Este patrón podría explicarse por una mayor incidencia de cleistogamia y/o androesterilidad con la latitud (Cunha et al., 2023).

La soja podría constituir la fuente más importante de polen para las abejas durante su óptimo de floración en verano, debido a la extensión que ocupa. Entonces, la soja sería un recurso muy importante no sólo para la nutrición de las abejas sino también para la producción de miel, característica sumamente valiosa en la agricultura Argentina, donde más de 16 millones de hectáreas están sembrada con soja (Blettler et al., 2018). Además, Blettler et al. (2018) mencionan que las abejas son los insectos más abundantes y frecuentes que visitan las flores de la soja, aunque otros himenópteros, así como dípteros y coleópteros, también son insectos visitantes habituales de sus flores. En un estudio realizado por Levenson et al. (2022) en el sudeste de EE.UU., se han identificado más de 30 especies de abejas forrajeando la soja y han comprobado que algunas de estas abejas pueden recolectar su polen, sin embargo existe un cuestionamiento de si verdaderamente existen especies de visitantes florales que puedan aprovechar efectivamente el polen de las flores de este cultivo.

Incluso los cultivos que no dependen estrictamente de los polinizadores pueden aumentar la cantidad y/o calidad de su producción aumentando el valor proteico o la concentración de lípidos (Yamamoto, 2009). La composición cuantitativa y cualitativa del aceite de soja está controlada genéticamente y es constante dentro de ciertos límites, sin embargo, se sabe que es influenciada por factores bióticos y abióticos, dentro de los factores bióticos los polinizadores podrían ser una opción (Palombo, 2017). Se ha observado que la polinización por insectos también puede influenciar positivamente la cantidad de los aceites en semillas de otros cultivos, por ejemplo en colza (Bartomeus et al., 2014). Si bien los mecanismos implicados son poco conocidos y apenas investigados para las plantas en general, dicha mejora en la calidad de las semillas podría deberse a un aumento del fitness por la polinización cruzada (Carrizo García et al., 2016). Es en este contexto que resulta de interés evaluar si los

polinizadores pueden tener un efecto en la composición cuantitativa de proteínas y aceites en cultivos de soja (Blettler, 2014).

Un aspecto que no ha sido evaluado aún refiere a los polinizadores como posibles dispersores de patógenos durante la polinización. Santone (2017) encontró aglomerados de polen e hifas de hongos sobre los estigmas de soja cosechados luego de finalizada la antesis. Está documentado que los polinizadores junto con el polen dispersan esporas que depositan durante las visitas sucesivas (Herrera et al., 2008). Dado el posible efecto negativo de la dispersión de polen asociado a la dispersión de patógenos, resulta novedoso identificar las comunidades de patógenos asociados a las semillas de soja producidas en flores que fueron expuestas a polinizadores y aquellas que se sabe han sido producidas únicamente por autofecundación.

En esta tesina se analizarán aspectos de la polinización del cultivo de soja como la diversidad específica de visitantes florales y de patógenos en semillas y su relación con diversos aspectos productivos como el peso y número de frutos y semillas, y la calidad de semillas.

HIPÓTESIS

- Las plantas expuestas a los polinizadores mostrarán diferencias en comparación con las plantas excluidas en el peso y número de frutos, peso de semillas, número de semillas por fruto, cantidad de semillas normales y vanas, contenido de lípidos y proteínas en las semillas
- La comunidad fúngica diferirá entre plantas expuestas a los polinizadores y aquellas excluidas.

OBJETIVOS

OBJETIVO PRINCIPAL

Reconocer a los polinizadores potenciales del cultivo de soja (*Glycine max* L. Merr.) en el sur de Santa Fe y determinar su influencia en el rendimiento y calidad de semillas a través de la aplicación de tratamientos de exclusión de insectos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Generar un listado de las principales morfoespecies de polinizadores potenciales
- Comparar el desarrollo de enfermedades fúngicas en semillas de plantas excluidas y expuestas a los polinizadores

- Cuantificar variables de productividad de plantas excluidas y plantas expuestas a polinizadores (peso y número de frutos, peso de semillas y número de semillas por fruto) y la variable peso de plantas
- Cuantificar las semillas normales y vanas en plantas excluidas y plantas expuestas a los polinizadores
- Analizar el contenido de lípidos y proteínas de semillas de plantas excluidas y expuestas a los polinizadores

MATERIALES Y MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDIO Y MATERIAL VEGETAL DE TRABAJO

Se seleccionaron dos sitios, uno ubicado en la localidad de Zavalla (-33.033056 S; -60.883611 O) correspondiente al lote tres del Campo Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNR), y otro en la localidad de Luis Palacios (-32.794167 S; -60.997778 O), Santa Fe, perteneciente a un productor privado. Ambos sitios cultivados con soja (*Glycine max* L. Merr.), el primero con la variedad DM 46i20 IPRO STS (fecha de siembra 10/11/2021) y el segundo con la variedad 46R18 STS (fecha de siembra 7/11/2021) bajo manejo agrícola convencional (monocultivo, siembra directa y uso de agroquímicos).

El estudio se realizó durante el período de verano 2021-2022. El paisaje circundante al sitio de estudio de la localidad de Zavalla estaba caracterizado por un área forestada semi-natural correspondiente al parque Villarino que favorece la presencia de abejas en cultivos circundantes (Mazzei et al., 2021). Además, el sitio se encuentra aledaño a un área urbana y dentro del campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias en el cual se hacen ensayos de cultivos con uso de agroquímicos y actividades ganaderas. También este sitio se encuentra cercano a un apiario con colmenas manejadas de *Apis mellifera*, y sin cuerpos de agua aledaños. Dicho paisaje se puede apreciar en la figura 1. Por otro lado, el sitio de estudio seleccionado en la localidad de Luis Palacios se encuentra inmerso en una matriz netamente agrícola sin colmenas cercanas (MAGyP, 2022), con algunos parches de monte implantado y jardines forestados cerca de los cascos de las estancias, varios lotes con soja y otros con suelo descubierto lo cual todo ello se puede notar en la figura 2.



Figura 1. Imagen satelital del lote tres en Zavalla con su ambiente circundante. Indicado en amarillo la ubicación de las parcelas de muestreo.

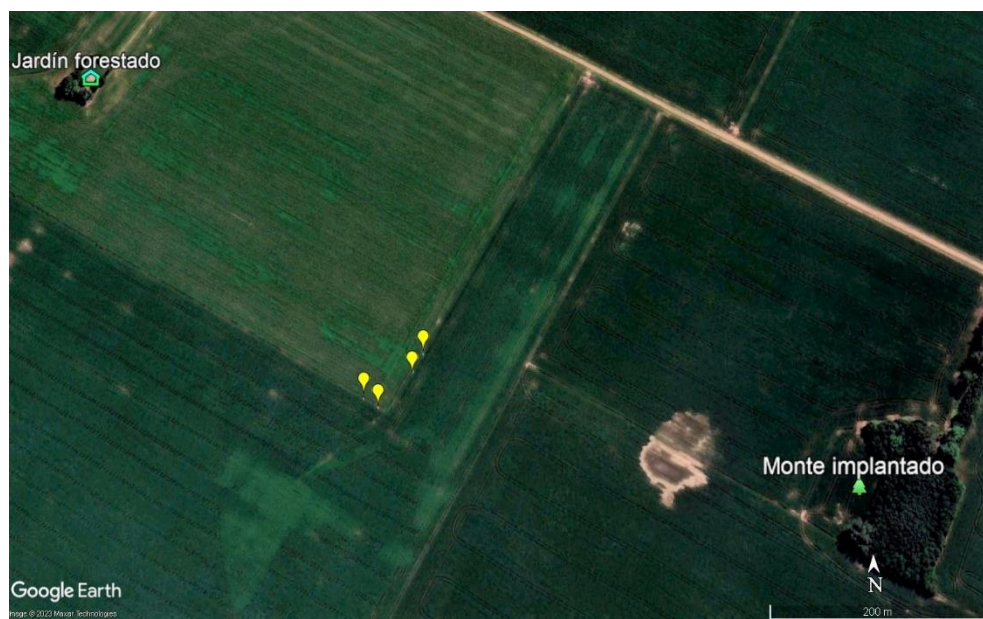


Figura 2. Imagen satelital del lote ubicado en la localidad de Luis Palacios. Indicado en amarillo la ubicación de las parcelas de muestreo.

TRATAMIENTOS

El experimento contó con dos tratamientos de ocho réplicas cada uno. El tratamiento 1 contenía plantas expuestas a la visita de polinizadores, y el tratamiento dos plantas excluidas a los mismos. En cada sitio se delimitaron cuatro parcelas al azar que contenían apareados los dos tratamientos diferentes. Para la exclusión a los polinizadores se confeccionaron jaulas (medidas: un metro de alto, ancho y largo, respectivamente). La altura fue ajustada al tamaño máximo de la planta para evitar contacto con la red de la jaula. Con el mismo objetivo, las

jaulas fueron posicionadas de modo que las plantas de un surco no hagan contacto con la red aislante. Las jaulas fueron construidas con marcos de caños plásticos y redes de tela voile en paredes y techo, las cuales poseen un diámetro de luz de malla suficientemente pequeño como para evitar el ingreso de polinizadores. Las jaulas se colocaron la semana anterior al inicio de la antesis y se retiraron finalizada la floración para asegurar que ningún visitante acceda a las flores. Se redujo al mínimo la duración del tratamiento para evitar los potenciales efectos diferenciales tales como modificación de la radiación y acceso de insectos fitófagos. Durante la aplicación de los tratamientos, las plantas fueron monitoreadas regularmente controlando la presencia de herbívoros. Las plantas expuestas fueron seleccionadas en el mismo surco de las plantas excluidas.

Si bien la selección de la ubicación de las parcelas fue al azar, se evitó ubicarlas en la huella del lote por donde pasan las maquinarias para que no sean un obstáculo para las prácticas de laboreo del campo cultivado.

VISITANTES FLORALES / POLINIZADORES

Observación y captura de potenciales polinizadores

Durante el período de floración, con el objetivo de capturar una muestra representativa de los distintos polinizadores potenciales, se colocaron trampas de plato (pan traps). Las mismas fueron realizadas con platos plásticos de tres colores distintos: azul, amarillo y blanco, se llenaron con agua jabonosa y se montaron a la mañana (8:00 hs) sobre un soporte de madera atadas a los vértices elevados de las estructuras de las jaulas y se colectó su contenido por la tarde (figura 3). Las pan traps fueron colocadas durante tres fechas: al comienzo, mediados y fin de la floración (10/01, 24/01 y 8/02 para el lote de Luis Palacios y 10/01, 26/01 y 07/02 para el lote de Zavalla). Se utilizaron diferentes colores de las trampas de plato con el fin de atraer a distintos grupos de insectos voladores, ya que los confunden con flores naturales y eso facilita su captura. Los insectos capturados fueron almacenados en tubos falcon con alcohol 100%, rotulados con la fecha de captura, parcela y sitio correspondiente (figura 4). Además, se realizaron avistamientos directos de insectos sobre las flores durante tres días (los mismos días que para la colocación de las pan traps) con condiciones estándares (días soleados, cálidos y con poco viento) y en tres horarios diferentes, por la mañana (8:00 hs), al mediodía (12:00 hs) y por la tarde (17:00 hs). Se recorrieron dos transectas de 150 metros durante 15 minutos ubicadas a cero metros y 50 metros desde el primer surco. Durante ese período se registraron las visitas de insectos a las flores.



Figura 3. Imágenes de una de las jaulas (tratamiento excluido) junto con las trampas de plato

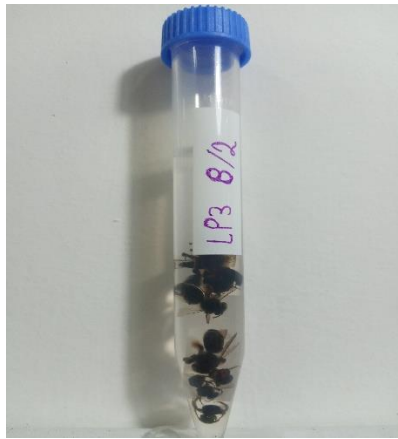


Figura 4. Tubo falcon rotulado con muestra de insectos capturados

Identificación y listado de polinizadores potenciales

Se procedió a identificar los artrópodos capturados y avistados a nivel de morfoespecie por medio de claves taxonómicas (Dalmazzo et al., 2014; Claps et al., 2008) y ayudándose con lupa (aumento 2x y 4x) en la Cátedra de Ecología de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNR). Finalmente, con toda la información obtenida se elaboró una tabla con las diferentes morfoespecies halladas en cada lote y su abundancia. Además, se realizaron cálculos de riqueza (número total de morfoespecies diferentes), diversidad (representados por el índice de Shannon-Weaver y número equivalente, ambos sugeridos por Jost & González Oreja (2012) como la forma correcta de medir la diversidad) y cálculo de la abundancia total de los potenciales polinizadores por sitio. Luego, las abejas se enviaron al Museo de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia de la provincia de Buenos Aires para una identificación más detallada. Para estudiar en más detalle las abejas de la región se clasificaron en grupos

funcionales las morfoespecies relevantes por ser potenciales polinizadores de la soja según caracteres como: comportamiento social (solitarias o eusociales), comportamiento de nidificación, hábito alimenticio (poliléticas, oligoléticas o monoléticas), recolección de polen por vibración y tamaño del cuerpo. Para tal clasificación se utilizó información disponible en bibliografía (Dalmazzo et al., 2014; Silveira et al., 2002; Fernández & Sharkey, 2006; Bonet Ferrer, 2016; Michener, 2007; Juárez et al., 2016; Neves & Viana, 2011).

COSECHA DE PLANTAS

A la madurez, se cosecharon cinco plantas consecutivas dentro de cada jaula y cinco plantas del mismo surco fuera de las jaulas. Las plantas fueron secadas en bolsas de papel rotuladas con los datos del sitio, tratamiento, parcela y número de planta. Todas las bolsas fueron conservadas en laboratorio bajo iguales condiciones de temperatura y humedad hasta el momento de realizar las mediciones.

VARIABLES DE PRODUCTIVIDAD

Conteo de semillas

Se procedió al conteo y clasificación de las semillas de cada una de las plantas individuales. Las semillas obtenidas fueron clasificadas en semillas normales y semillas vanas (semilla no normal fuera de los parámetros de tamaño, peso y forma). Estas últimas incluyen a semillas pequeñas y livianas (abortadas, arrugadas o deformadas). Se calculó el peso seco de la planta (sin frutos) para corroborar una posible incidencia de esta variable con las de productividad, peso de los frutos (vaina más semillas) y del conjunto de semillas de cada planta comparando los resultados entre tratamientos. El análisis fue realizado en el Laboratorio de Cultivos Extensivos – Cereales – Ecología – Zoología de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNR).

CALIDAD DE SEMILLAS

Para evaluar la calidad de semillas se tuvieron en cuenta dos aspectos, en primer lugar, el contenido de proteínas y lípidos, y en segundo lugar la presencia de patógenos.

Análisis NIR

Se compararon los contenidos de proteínas y lípidos de las semillas mediante el método del Infrarrojo Cercano (NIR). Para ello se tomó una muestra representativa de semillas de cada parcela para ambos tratamientos (excluida o expuesta) para cada uno de los dos sitios, dando un total de 16 muestras. Los resultados obtenidos consistieron en cantidad porcentual de lípidos y proteínas de cada muestra, los cuales fueron procesados y analizados en el software R versión 4.0.5 (R Core Team, 2021) y se comparó la diferencia de valores entre tratamientos.

Dicho análisis se llevó a cabo con el equipo de análisis NIR (modelo NIRS5000, Foss, Dinamarca; figura 5) en el Laboratorio de Cultivos Extensivos de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNR).



Figura 5. Equipo de análisis NIR con celda de muestras de semillas de soja

Análisis de Patógenos

Por otra parte, se realizó una prueba de calidad de semillas mediante análisis de patógenos utilizando como método de laboratorio el Blotter Test (Scandiani & Luque, 2009). Para dicho análisis se procedió a incubar, sobre papel de filtro dentro de cajas de Petri estériles en condiciones de cámara húmeda, una muestra representativa de diez repeticiones de diez semillas (figura 6) para cada una de las 16 muestras (1600 semillas en total). Previamente se desinfectó superficialmente las semillas con hipoclorito de sodio al 1% durante diez minutos. El período de incubación fue de siete días a una temperatura de entre 22 y 25° C, bajo un régimen luminoso de 12 horas de luz cercana a la ultravioleta (entre 200 nm y 400 nm) y 12 horas de oscuridad. Luego de la incubación se identificaron los géneros fúngicos presentes en cada una de las semillas, con la ayuda de lupa (2x y 4x), por medio de claves taxonómicas (Scandiani & Luque, 2009). Luego se contó la cantidad de semillas contaminadas con cada patógeno para cada tratamiento. El resultado se expresó en promedio de cada patógeno por tratamiento. El análisis fue realizado en el Laboratorio de Semillas de la Estación Experimental Agropecuaria INTA Oliveros.

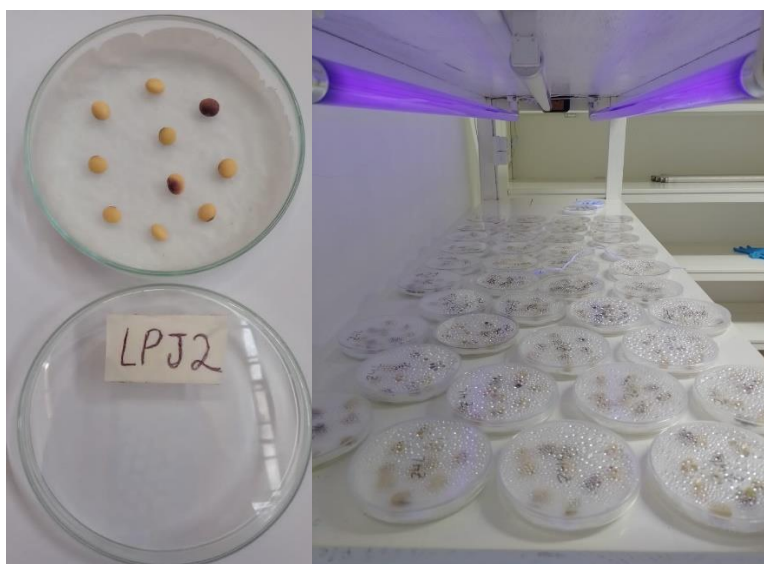


Figura 6. Semillas en caja de Petri para análisis Blotter Test y cámara de incubación de las muestras

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se utilizaron Modelos Lineales Generalizados utilizando el software R versión 4.0.5 (R Core Team, 2021). Para ello se utilizó el paquete lme4 (Bates et al., 2015). Para cada variable dependiente (número de frutos, peso de frutos, peso de plantas, peso de semillas, semillas por fruto, total de semillas normales, total de semillas vanas, contenido de lípidos y contenido de proteínas) se ajustó el modelo más complejo usando la variable tratamiento como variable independiente con dos niveles (plantas libres fuera de la jaula y plantas excluidas encerradas en la jaula). Los modelos incluyeron las variables aleatorias sitio y bloque anidadas. Para determinar las distribuciones de probabilidad de las variables dependientes se utilizó el paquete fitdistrplus R (Delignette-Muller & Dutang, 2015) siendo normales (semillas por frutos y cantidad de lípidos), lognormales (peso de frutos, peso de semillas y cantidad de proteínas), gamma (peso de plantas) o binomial negativa (número de frutos, total semillas normales y total semillas vanas). Los gráficos de los modelos mejor ajustados se construyeron con la función ggpredict del paquete de R ggeffects (Lüdecke, 2018).

Con los resultados del análisis de patógenos se construyó una matriz de 160 muestras y 12 patógenos. Dicha matriz fue analizada mediante métodos multivariados de ordenamiento también en el software R. Para ello se aplicó un Análisis de Componentes Principales (ACP) y se utilizó la matriz de variancia-covariancia con el recuento de patógenos usando el paquete FactoMiner (Lê et al, 2008). Para representar los resultados se construyó un biplot mediante la función fviz_pca_biplot. Se realizó un test MANOVA con aleatorización mediante el Procedimiento de Permutación Multi Respuesta (PPMR), para un total de 999 permutaciones,

con distancia euclídea como medida de disimilitud entre los recuentos o muestras, el cual permite comprobar si existe diferencia significativa entre la abundancia de cada patógeno presente en ambos tratamientos. Además, a partir de la matriz de recuento de patógenos se calculó el promedio de cada patógeno hallado y su respectivo desvío, y luego se compararon los resultados entre tratamientos.

RESULTADOS

VISITANTES FLORALES / POLINIZADORES

Se identificaron 12 morfoespecies pertenecientes a los órdenes Hymenoptera, Lepidoptera, Coleoptera, Muscidae, las familias Halictidae, Megachilidae, Apidae, Vespidae, Melyridae, Noctuidos, Syrphidae y Diptera, y a los géneros *Megachile*, *Melissodes*, *Apis*, *Astylus* y *Helicoverpa* capturadas con las pan traps en los diferentes sitios evaluados (tabla 1). En la figura 7 se observan algunas de las morfoespecies identificadas en actividad de visita de las flores de plantas de soja fuera del período de muestreo, y en la figura 8 se muestran algunas de las morfoespecies identificadas en el presente estudio. La familia Halictidae fue la más abundante en ambos sitios, seguido de *Melissodes* sp. En la tabla 2 se detallan los valores de abundancia total de las diferentes morfoespecies consideradas polinizadores potenciales de la soja según bibliografía (Blettler et al., 2020; Silveira et al., 2002; Michener, 2007; Cunningham Minnick et al., 2019; Fernández & Sharkey, 2006; Bonet Ferrer, 2016; Santos et al., 2013; López García et al., 2019) en las dos localidades de estudio. No se obtuvieron registros de visitas por observación directa durante el recorrido de las transectas.

Tabla 1. Morfoespecies capturadas en pan traps e identificadas mediante claves dicotómicas (*Zavalla, **Luis Palacios)

Orden	Familia	Género	Especie	Morfoespecie
Hymenoptera	Halictidae			Halictidae ^{*,**}
Hymenoptera	Megachilidae	<i>Megachile</i>		<i>Megachile</i> sp. [*]
Hymenoptera	Apidae	<i>Melissodes</i>		<i>Melissodes</i> sp. ^{*,**}
Hymenoptera	Apidae	<i>Apis</i>	<i>A. mellifera</i>	<i>A. mellifera</i> ^{**}
Hymenoptera	Apidae			Apidae sp. ^{**}
Hymenoptera	Vespidae			Vespidae sp. [*]
Lepidoptera	Noctuidos	<i>Helicoverpa</i>	<i>H. gelotopoeon</i>	<i>H. gelotopoeon</i> [*]
Lepidoptera				Rhopalocera ^{**}

Coleoptera	Melyridae	<i>Astylus</i>	<i>A. astromaculatus</i>	<i>Astylus</i> ^{*,**}
Coleoptera				Coleoptera ^{*,**}
Muscidae	Diptera			Diptera ^{*,**}
Muscidae	Syrphidae			Syrphidae ^{*,**}

Nota. Morfoespecies capturadas en Zavalla (*) y en Luis Palacios (**)

a)



b)



c)

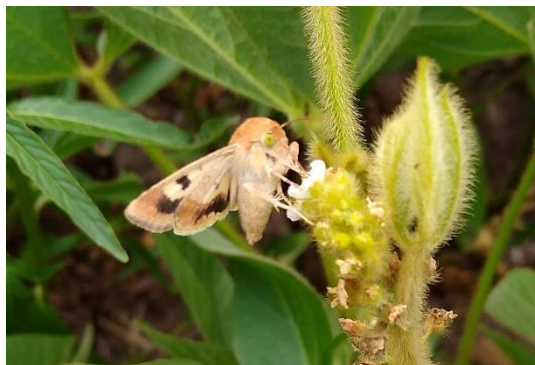


Figura 7. Visitas registradas fuera del periodo de muestreo: **a)** Halictidae sp., **b)** *Apis mellifera*, **c)** *Helicoverpa gelotopoeón*

a)



b)



c)



d)



e)



f)



g)



h)



i)



Figura 8. Imágenes de abejas*: **a)** *Augochlorella mediodionalis*, **b)** *Augochlora nausicaa*, **c)** *Augochlora phoemonoe*, **d)** *Augochloropsis*, **e)** *Dialictus* sp., **f)** *Ruizantheda* sp., **g)** *Melissodes brunneri*, **h)** *Melissodes tintinnans*, **i)** *Megachile* sp.

*Fotografías de especímenes capturados en esta tesina realizadas en el Museo de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia

Tabla 2. Abundancia total de las morfoespecies en ambas localidades

Morfoespecies	Abundancia Zavalla	Abundancia Luis Palacios
Halictidae	98	368
<i>Melissodes</i> sp.	93	39
<i>Megachile</i> sp.	1	0
<i>A. mellifera</i>	0	1
Apidae sp.	0	1
Vespidae sp.	1	0

Los valores de riqueza, Índices de Shannon-Weaver y números equivalentes se muestran en la tabla 3. La riqueza encontrada de artrópodos polinizadores y no polinizadores fue semejante en ambas localidades. Sin embargo, los índices de diversidad y números equivalentes calculados fueron mayores en la localidad de Zavalla.

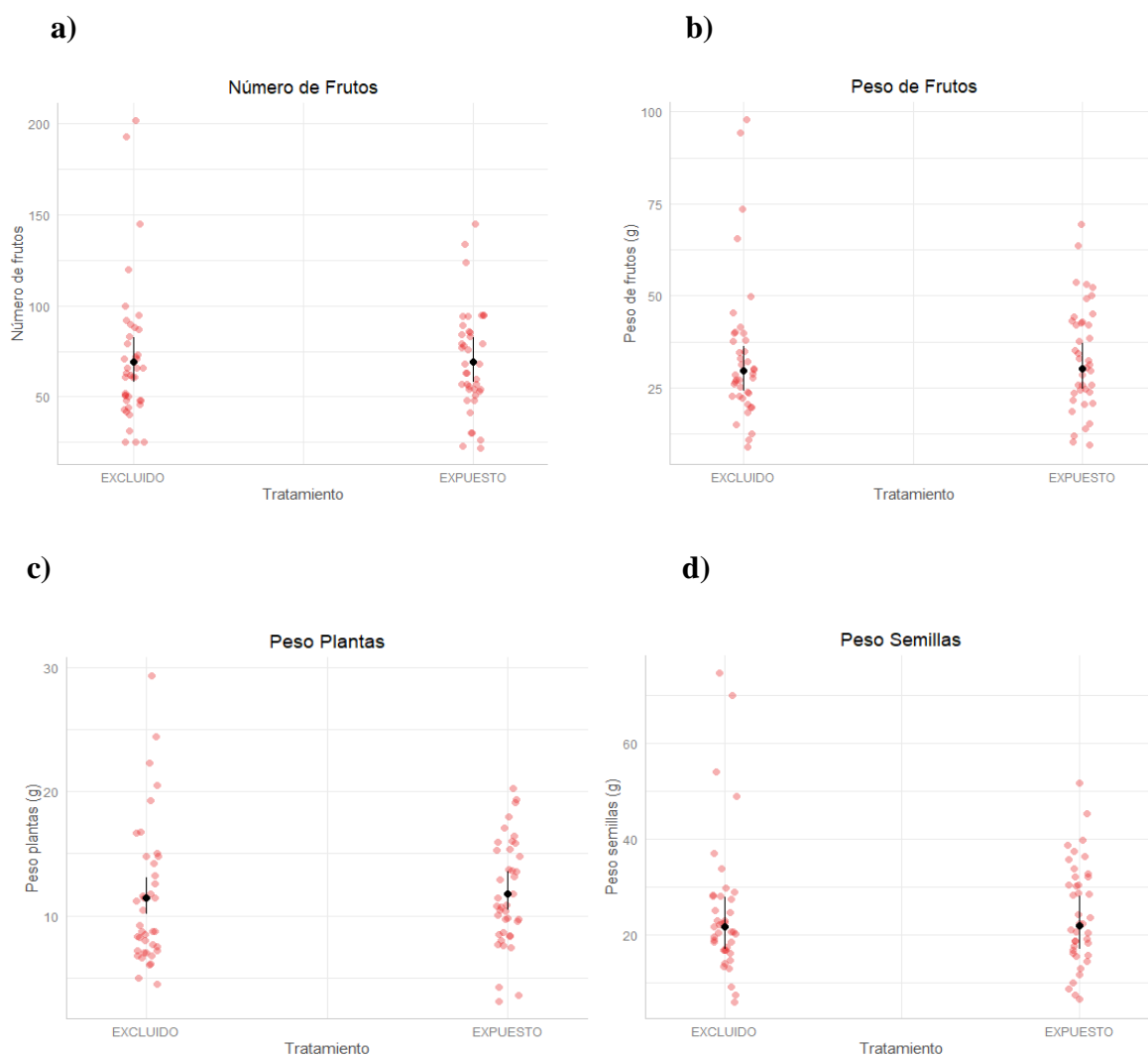
Tabla 3. Valores de riqueza y diversidad (Índice de Shannon-Weaver y número equivalente) para ambas localidades.

Sitio	Riqueza	Índice de Shannon-Weaver	Número equivalente
Zavalla	9	0,99	2,70
Luis Palacios	9	0,63	1,87

Como resultado de clasificar en grupos funcionales a los potenciales polinizadores hallados, se menciona que dentro de la familia Halictidae las especies varían desde formas solitarias hasta eusociales, construyen nidos en el suelo, aunque algunas lo hacen en madera muerta o entre hojas de bromelia en descomposición. La mayoría son poliléticas (visitan una gran variedad de plantas por polen y néctar) y se mencionan varios géneros que recolectan el polen por vibración (zumbido). Dentro de la familia Apidae predominan especies sociales (el género *Melissodes* suelen ser solitarias). Construyen sus nidos en el suelo, sobre ramas, cañas o sobre sustrato de madera muerta, la mayoría poliléticas y en el caso del género *Melissodes* los machos poseen antenas más largas que las hembras. Hay registros de que especies de esta familia recolectan el polen por vibración, excepto el género *Apis*. La familia Megachilidae es generalmente de hábitos solitarios aunque también pueden agregarse. Construyen sus nidos en suelo, cañas, madera o utilizan hojas y partes de flores a veces mezcladas con barro. Sus hábitos alimentarios varían de poliléticas a oligoléticas (visitan pocas plantas del mismo género o familia) y también hay especialistas de asteráceas y géneros cleptoparásitos. Las especies de la familia Vespidae son generalmente sociales, construyen sus nidos en diversos lugares como el suelo o ramas, la mayoría utilizando barro con hojas y secreciones glandulares. También tienen gran diversidad estructural en los nidos (forma, tamaño y sujeción a sustrato). Poseen diversos hábitos de alimentación desde predadores de insectos hasta quienes consumen polen y néctar recogiendo por vibración. Los individuos dentro de una especie son iguales en coloración pero se diferencian a nivel morfológico por el tamaño de las hembras pudiendo ser más o menos grandes respecto de las obreras.

VARIABLES DE PRODUCTIVIDAD

La influencia de los polinizadores sobre las variables de productividad (número de frutos, peso de frutos, peso de semillas y semillas por frutos) y peso de plantas fue no significativa estadísticamente (figura 9). Las medias predichas por el modelo para las plantas excluidas y expuestas respectivamente fueron: 69,22 y 69,26 en número de frutos, 29,55 y 30,25 en peso de frutos, 21,74 y 21,90 en peso de semillas, 2,21 y 2,27 en semillas por fruto, y 11,40 y 11,77 en peso de plantas (sin frutos).



e)

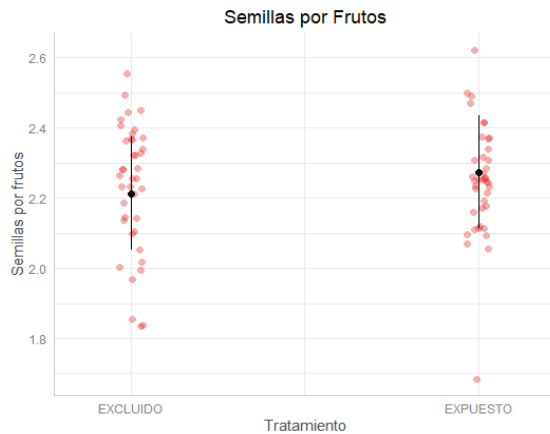
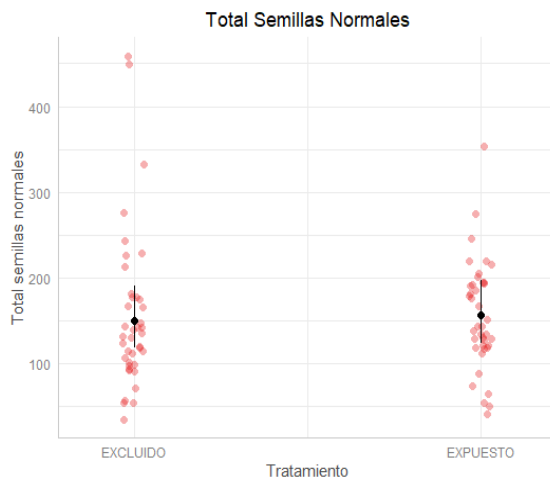


Figura 9. Variables de productividad para los tratamientos de plantas excluidas y expuestas. Medias e intervalos de confianza al 95% predichos por el modelo ajustado: **a)** número de frutos por planta; **b)** peso de frutos en gramos (g) por plantas; **c)** peso de plantas (g); **d)** peso de semillas (g) por planta; **e)** cantidad promedio de semillas por frutos.

Con respecto a la cantidad de semillas normales y vanas se observó que el total de semillas normales fue levemente mayor en las plantas expuestas a los polinizadores. Sin embargo, la diferencia resultó ser no significativa ($p=0,7$) para plantas excluidas y no excluidas. La media del total de semillas normales para el tratamiento de plantas expuestas fue 156,47 contra 150,59 para las plantas excluidas. Sin embargo, para el conteo del total de semillas vanas por planta fue levemente mayor en las plantas excluidas aunque también con un valor de p no significativo.

a)



b)

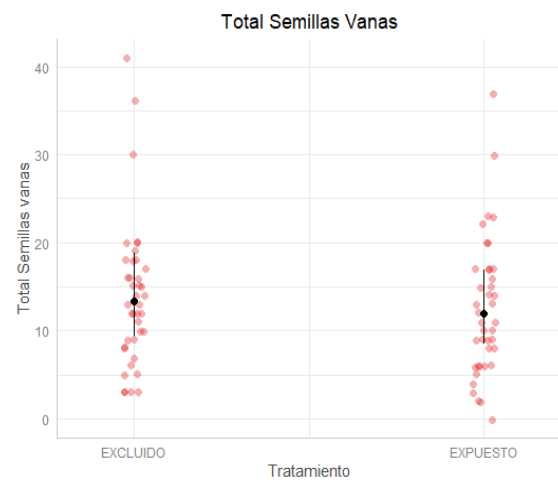


Figura 10. Cantidad de semillas normales y vanas para cada uno de los tratamientos evaluados. Medias e intervalos de confianza al 95% predichos por el modelo ajustado: **a)** cantidad total de semillas normales; **b)** cantidad total de semillas vanas.

CALIDAD DE SEMILLAS

Contenido de lípido y proteína

Los resultados del análisis NIR mostraron que el contenido de lípidos fue levemente mayor en el tratamiento de plantas expuestas a polinizadores, mientras que el porcentaje de proteínas fue levemente menor para el mismo tratamiento. Las medias para las plantas excluidas y expuestas respectivamente fueron: 34,72 y 34,5 en proteínas, 22,29 y 22,81 en lípidos. Ambos análisis resultaron ser no significativos estadísticamente por lo tanto no se encontraron diferencias entre las plantas excluidas y las no excluidas.

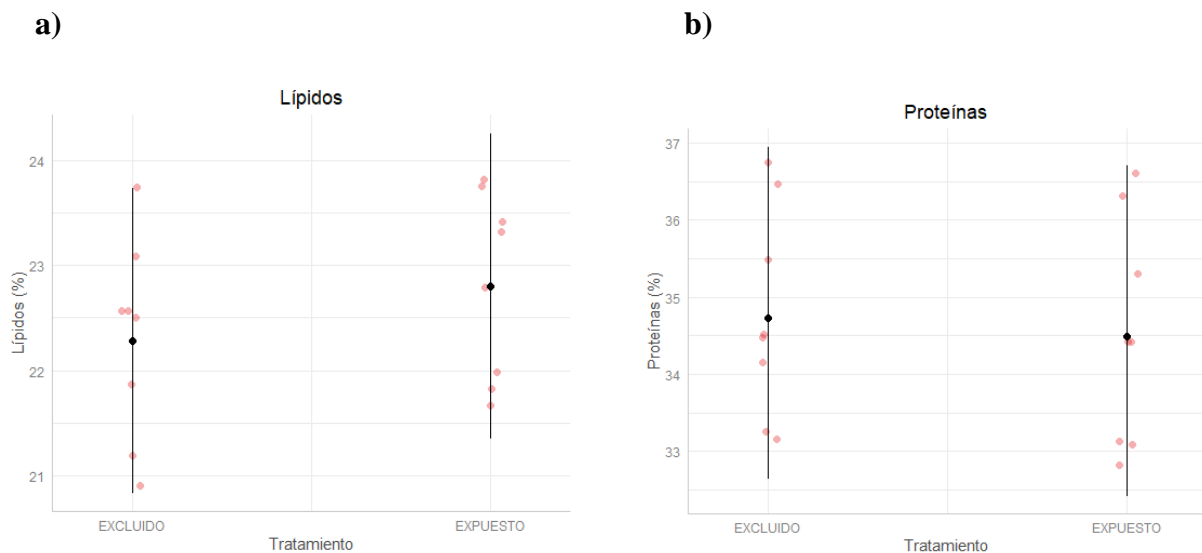


Figura 11. Contenido de lípidos y proteínas para cada uno de los tratamientos evaluados. Medias e intervalos de confianza al 95% predichos por el modelo ajustado: **a)** cantidad de lípidos (%) por tratamiento; **b)** cantidad de proteínas (%) por tratamiento

Patógenos

Los análisis de laboratorio realizados mediante el método de Blotter Test para determinación de sanidad en las semillas cosechadas presentaron diferentes patógenos asociados comúnmente a la semilla de la especie. Estos patógenos estuvieron representados por los siguientes géneros: *Phomopsis*, *Fusarium*, *Cercospora*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Epicocum*, *Trichothecium*, *Colletotrichum* y *Chaetomium*.

Los patógenos más abundantes para ambos tratamientos correspondieron a los géneros *Phomopsis* sp., *Alternaria* sp., *Cercospora kikuchii* y *Cladosporium* sp. Debido que son los que aparecen en mayor abundancia del total del recuento de patógenos, estos cuatro patógenos mencionados se seleccionaron para realizar el Análisis de Componentes Principales (ACP). El biplot (figura 12) es el resultado del ACP y para la construcción del mismo se eligió el primer componente principal (eje 1) del biplot el cual explica el 40.1% de los datos de la matriz de recuento de patógenos, y el segundo componente principal (eje 2) el cual explica el 33.9% de los datos. Es decir, que entre los dos primeros componentes se explica el 74% de la variabilidad de datos de la matriz. Los resultados del Test de MANOVA aleatorización PPMR indica que existen diferencias significativas ($p=0,009$) en la cantidad de patógenos comúnmente asociados a la semilla de soja presentes en cada uno de los tratamientos (plantas excluidas y plantas expuestas) de este estudio. Esto indica una asociación positiva entre comunidad fúngica y tratamientos.

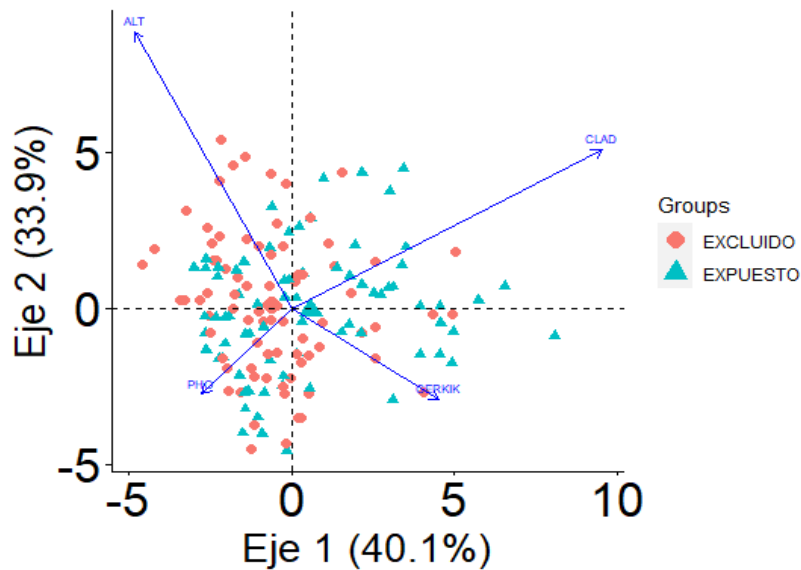


Figura 12. Biplot que muestra la distribución de la cantidad de patógenos de *Phomopsis* (PHO), *Alternaria* (ALT), *Cercospora kikuchii* (CERKIK) y *Cladosporium* (CLAD) para los tratamientos excluido y expuestos.

Del biplot obtenido se observa en primer lugar que las muestras de los tratamientos expuesto y excluido se encuentran superpuestas, con presencia de los cuatro patógenos más abundantes. También se desprende del biplot que las muestras expuestas se separan hacia la derecha del eje 1 con mayor abundancia de *Cladosporium*, mientras que las excluidas se separan hacia la izquierda y hacia arriba con mayor abundancia de *Alternaria*. El patógeno *Cladosporium* se encontró en menor proporción en el tratamiento excluido. Además, seis de los patógenos hallados en baja cantidad (*Aspergillus niger*, *Epicocum* sp., *Trichothecium* sp., *Colletotrichum* sp., *Chaetomium* sp. y *Cercospora sojina*) únicamente fueron encontrados en las semillas de plantas excluidas.

Los promedios y desvíos estándar de los principales patógenos hallados en cada tratamiento se muestran en la tabla 4, y en la figura 13 se muestran algunos de los patógenos hallados en el presente estudio:

Tabla 4. Promedio y desvío de los principales patógenos por tratamiento

Género	Excluido		Expuesto	
	Promedio	Desvío	Promedio	Desvío
<i>Phomopsis</i> sp.	1,1	1,44	1,01	1,1
<i>Alternaria</i> sp.	3,4	2,16	2,76	1,9
<i>Cercospora kikuchii</i>	2,75	1,83	2,96	1,56
<i>Cladosporium</i> sp.	1,71	1,72	2,65	2,43

a)



b)



c)



d)



e)



f)



Figura 13. Fotos* tomadas con lupa (2X y 4X) de los diferentes patógenos hallados en semillas de soja: **a)** *Fusarium sp.*; **b)** *Alternaria sp.*; **c)** *Cercospora kikuchii*; **d)** *Phomopsis sp.*; **e)** *Aspergillus flavus*; **f)** *Cladosporium sp.*

* Fotografías de patógenos presentes en semillas de la tesina obtenidas en el Laboratorio de Semillas de INTA Oliveros por la Ing. Agr. (M.Sc) Carina Gallo

DISCUSIÓN

VISITANTES FLORALES / POLINIZADORES

Algunas de las morfoespecies capturadas durante el muestreo se corresponden con polinizadores potenciales de la soja, mientras que otras no estarían involucradas directamente en el proceso de polinización (Blettler et al., 2020; Silveira et al., 2002; Michener, 2007; Cunningham Minnick et al., 2019; Fernández & Sharkey, 2006; Bonet Ferrer, 2016; Santos et al., 2013; López García et al., 2019). Dentro de las morfoespecies coincidentes Cunningham Minnick et al. (2019) encontraron entre las especies nativas asociadas a un cultivo de soja en el oeste de Estados Unidos a especies del género *Melissodes* y otras de *Dialictus* (Halictidae). Dichos géneros fueron hallados en el presente estudio y particularmente *Melissodes sp.* fue la segunda morfoespecie de mayor abundancia capturada. Klein et al. (2006), se refirieron a las abejas solitarias del género *Megachile sp.* y a las abejas sociales *Apis mellifera*, ambas capturadas en este estudio, como polinizadores de soja. En particular, el género de abejas *Dialictus* podría ser un polinizador eficiente ya que representa a especies que miden unos pocos milímetros. El tamaño pequeño de estas abejas asegura una optimización en el forrajeo y en la utilización de los recursos florales de la soja (polen y néctar; Cunningham Minnick et al., 2019). En este estudio no se encontraron abejorros (*Bombus spp.*), el cual si fue mencionado por Cunningham Minnick et al. (2019), en un estudio realizado en Estados Unidos, como un visitante floral del cultivo de soja.

Con respecto al registro de insectos sobre las flores, Santone et al. (2022) observaron visitantes florales en un rodal de vegetación leñosa en la localidad de Zavalla, muy cercano al lote de estudio del presente trabajo. Por ejemplo hallaron Halictidae, *A. mellifera*, Syrphidae (Diptera) y *Astylus astromaculatus* (aunque estas dos últimas no corresponden a potenciales polinizadores), lo cual podría explicar en parte lo encontrado aquí en las pan traps. Dentro de las especies mencionadas, *A. mellifera* es una abeja de tamaño medio y según Cunningham Minnick et al. (2019) es un conocido polinizador de la soja. A pesar de esto, y de que existían colmenas manejadas de *A. mellifera* cercanas al lote de estudio en Zavalla, no fue capturado ningún individuo de dicha especie, y tan solo uno en Luis Palacios. Una explicación puede deberse a la eficacia de las trampas de plato para la captura de *A. mellifera* lo cual es cuestionado por varios autores. Por ejemplo Heneberg & Bogusch (2014) en su estudio no hallaron dicha abeja en las trampas de color blanco o amarillo. Del mismo modo en un estudio realizado por Stephen & Rao (2005), *Apis* estuvo prácticamente ausente en todas las pan traps a pesar de que abundaba en sus inmediaciones. Por este motivo se asumiría que las pan traps no serían un buen método para la captura de abejas melíferas (Cane et al., 2001), pudiendo ser las redes entomológicas un método más eficiente (Brosi et al., 2007).

No se registraron visitas durante los periodos de muestreo realizados durante la floración de la soja como en otros estudios de la zona (Santone et al. 2022). Algunas de las razones por las cuales no se observaron visitantes florales de forma directa podrían deberse a las condiciones climáticas ocurridas en el momento del muestreo. Si bien los días de muestreo y recorrida de transectas tuvieron condiciones óptimas para el muestreo de polinizadores (días soleados y sin viento; Andrada & Tellería, 2005), las precipitaciones totales del mes de enero (correspondiente al mes del muestreo) junto con la humedad relativa fueron inferiores al promedio de los últimos cinco años. Además, la temperatura media fue 1,4 grados centígrados mayor y las ráfagas máximas de viento fueron más de dos puntos mayores que el promedio en ese mismo período. Se agrega también la elevada sequía histórica producto de años de fenómeno Niña ocurridos en los años previos al muestreo (Estación Automática Agrometeorológica de la Facultad de Ciencias Agrarias de Zavalla-UNR/Cátedra de Climatología Agrícola). Todos estos valores climáticos deberían ser tenidos en cuenta al realizar comparación de los resultados obtenidos con otras investigaciones. Debido a que sí se capturaron potenciales polinizadores en las trampas ubicadas dentro del cultivo, la amplia superficie del paisaje destinada a la soja pueden representar parches del paisaje que permiten el movimiento de abejas a otras áreas, a pesar de no proveer de recursos de alimentación y de depender de muchos insumos como pesticidas y maquinaria agrícola que tiene efectos letales

y subletales sobre las abejas y sus nidos (Aizen et al., 2019; Coutinho et al., 2018; Galetto et al., 2022; Siviter et al., 2018).

A pesar de que pocos estudios hacen un análisis de la diversidad de visitantes florales de la soja sería importante considerar esta información (Kremen et al., 2002). En general, la diversidad de las comunidades de abejas nativas garantiza el servicio ecosistémico de la polinización debido a las fluctuaciones temporales de las poblaciones de abejas, que se sabe que son muy variables en el espacio y en el tiempo (Williams et al., 2001; Roubik, 2001). Dicha diversidad amortiguaría la polinización frente a las fluctuaciones asincrónicas de la abundancia de abejas entre años. Esto especialmente en referencia a especies nativas, en primer lugar debido a su adaptación a las condiciones ambientales de su hábitat original y en segundo lugar por la problemática de transmisión de enfermedades atribuidas a las especies exóticas como por ejemplo *Varroa destructor*, que es una de las principales causas de mortalidad de colmenas de abejas *A. mellifera* a nivel mundial (Potts et al., 2010; Kearns et al., 1998).

Cuando se habla de diversidad, también es importante reconocer y agrupar a las morfoespecies en los distintos grupos funcionales debido a que, cambios en las prácticas de manejo agropecuario o en el paisaje circundante podrían afectar diferencialmente a los grupos funcionales de abejas. De esta forma, una mayor diversidad funcional podría asegurar la estabilidad del servicio de polinización entomófila a largo plazo. Un claro ejemplo podría ser el grupo funcional que definimos aquí como las abejas según su sitio de nidificación. Las abejas que anidan en el suelo pueden ser afectadas por maquinaria agrícola mientras que las que anidan en cavidades de la madera o árboles (por ejemplo algunas especies de las familias Halictidae y Apidae, o del género *Megachile*) o las abejas como *A. mellifera* que tienen colmenas en sitios muy antropizados no (Brosi et al., 2007; Langellotto et al., 2018). Si en cambio sólo cambiara el paisaje y desaparecieran los sitios para las abejas que anidan cavidades en ramas o árboles caídos solo ese grupo funcional sería afectado y no los restantes, quedando de este modo otras abejas disponibles para la polinización.

Kremen et al. (2002) destacaron (en especies hortícolas) que un conjunto diverso de especies es necesario para una función polinizadora más eficiente en un año y especies relativamente poco importantes en un año se convirtieron en dominantes funcionales cruciales en el año siguiente. Esto se debe a que las especies varían en la capacidad de polinizar los diferentes cultivos: no existe una especie que sea eficiente polinizadora de la mayoría de los cultivos dependientes. De hecho, muchas veces las colmenas de abejas melíferas manejadas, son ineficaces en determinados cultivos. Apoyando la hipótesis anterior, Garibaldi et al. (2016)

agregan que los beneficios de la mayor densidad de visitantes florales en el rendimiento de un cultivo es mayor en parcelas pequeñas (dos hectáreas) independientemente de la riqueza de especies visitantes, en comparación con parcelas más grandes (20 hectáreas) donde los beneficios son mayores cuando es mayor la riqueza de visitantes florales. Si bien los valores de riqueza fueron semejantes para ambos sitios, los valores de diversidad fueron mayores para la localidad de Zavalla. Esta diferencia en la diversidad se puede explicar a raíz del contexto en donde se ubica cada sitio de muestro. El sitio de estudio en Zavalla se localiza a poca distancia (0,05 km) del parque Villarino (un área forestada semi-natural) con registros que favorecen la presencia de abejas en cultivos circundantes (Mazzei et al., 2021) y siendo las áreas forestadas importantes para muchos polinizadores, sean especialistas o generalistas (Hanula et al., 2016), o como reservorios de los mismos por proveer sitios de alimentación, refugio y reproducción a muchas especies (Quesada et al., 2022). También dicho sitio está aledaño a un lote de producción Agroecológica donde no se aplican fitosanitarios y cuenta con presencia de bordes de vegetación espontánea que favorece la presencia de visitantes florales. Además se ubica cercano a una zona urbana (0,5 km), y se ha demostrado que los jardines, por la alta disponibilidad de flores, albergan comunidades de abejas muy abundantes y diversas (Wenzel et al., 2020; Fetridge et al., 2008; Matteson et al., 2008; Baldock et al., 2015) incluso más que las tierras agrícolas colindantes (Kaluzá et al., 2016). Se agrega que las zonas urbanas pueden ofrecer una mayor diversidad de sustratos para nidificación (por ejemplo, huecos en paredes) o servir de refugio cuando escasea el forraje o nidos (Langellotto et al., 2018). De un modo diverso, el sitio de muestreo ubicado en Luis Palacios se encontraba inmerso en una matriz netamente agrícola, sin producciones apícolas cercanas (MAGyP, 2021) y tan solo un parche de bosque pequeño a 1 km de distancia, lo que podría explicar la diferencia de diversidad entre ambos sitios.

A pesar de la importancia económica de la soja, el conocimiento sobre el efecto de la polinización entomófila en el rendimiento de semillas es escaso. Esto podría ser crítico, ya que la densidad y diversidad de polinizadores silvestres ha disminuido (Garibaldi et al., 2013) con la homogenización del paisaje y reducción de hábitats que proporcionan recursos de refugio, anidación y alimentación (Blettler et al., 2018). Esto hace indispensable identificar las características biológicas de los polinizadores como: recursos alimenticios, nidificación, respuesta a agroquímicos de uso cotidiano, hábitos de vida y momento de forrajeo. Así mismo, mejorar los medios de subsistencia de los pequeños y grandes productores a través del aumento en el rendimiento de los cultivos y reducir los impactos ambientales negativos de la agricultura es uno de los mayores desafíos para la humanidad (Garibaldi et al., 2016).

VARIABLES DE PRODUCTIVIDAD

Aunque Klein et al. (2006) caracterizaron a la soja dentro de la categoría de impactos positivos modestos de rendimiento debido a la polinización por insectos, los resultados obtenidos aquí no soportan las hipótesis planteadas al no arrojar diferencias significativas entre tratamientos de polinización. Los resultados en la bibliografía son dispares, esto puede deberse a diferencias en términos de las variedades de soja utilizadas, puede variar según las regiones o latitudes del mundo en donde se llevaron a cabo los estudios, o como así también verse influenciado por diferencias en la abundancia y diversidad de polinizadores presentes en cada uno de los estudios (Erickson, 1975; Grossenbacher et al., 2015; Cunha et al., 2023).

Chiari et al. (2005) en Brasil obtuvieron en plantas expuestas un aumento de la producción de semillas en un 57,73% en relación con el tratamiento excluido. De igual manera Cunningham Minnick et al. (2019) en Estados Unidos un 23,1% y Erickson et al. (1978) un 21,6%. Con valores menores a los ya citados, un estudio realizado por Milfont et al. (2013) en cultivos de soja en Brasil, con diferencias significativas entre los tratamientos, dio un incremento medio del 6,34 % en las zonas en las que los visitantes florales tenían libre acceso a las flores.

Se destaca un estudio realizado en Argentina en la localidad de Zavalla, el cual constituye un antecedente para este trabajo ya que permite comparar los mismos tratamientos en diferentes momentos históricos, y por lo tanto también en otras circunstancias climáticas (Santone et al., 2022). Esto le otorga al análisis una mayor cantidad de datos para sacar conclusiones más sólidas sobre el tema en cuestión. En dicho estudio de Santone et al. (2022) observaron que cuando los polinizadores visitaron las flores de soja, el número total de semillas por planta mostró valores más altos (casi 22 semillas más) que en las flores excluidas de polinizadores ($p < 0,001$). Mientras que en el presente estudio el valor de número de semillas por planta fue de casi 6 semillas menos (3,8%) en el tratamiento excluido.

Además, Blettler et al. (2018) obtuvieron en su tratamiento expuesto a insectos visitantes un 18% más de producción de semillas que el tratamiento de exclusión ($p = 0,003$), en su primer año de estudio, mientras que en el segundo año el rendimiento de semillas fue similar entre ambos tratamientos (sin diferencias significativas). De igual manera Jung (2014) no encontró diferencias significativas en las variables de productividad en plantas soja al aplicar los mismos tratamientos. Santos et al. (2013) tampoco hallaron diferencias significativas entre tratamientos que se ubicaban a 200 metros de colmenas con *A. mellifera*, siendo el promedio de semillas por plantas 5% mayor en el tratamiento expuesto. Con respecto a este último trabajo, es sabido que *A. mellifera* vuela grandes distancias para pecorear flores más atractivas aunque ofrezcan recursos florales en simultáneo con otros cultivos como la soja en

este caso, además de que son fieles a las flores que visitan ya que propagan información olfativa dentro de la colmena y estas señales influyen en el comportamiento de búsqueda de alimento del resto de las abejas (Fernández & Farina, 2001; Grüter et al., 2006). Este comportamiento puede explicar lo observado en el último trabajo mencionado, y la falta de visitas de *Apis* y capturas en el lote de Zavalla donde hay apiarios cercanos.

La existencia de una disparidad entre los valores obtenidos por diferentes autores sugiere la presencia de otros factores y/o elementos que influyen en los resultados de esta interacción. Dentro de tales factores podríamos incluir a la variedad de soja utilizada en el experimento y las condiciones ambientales cambiantes como la latitud, temperatura, abundancia y diversidad de polinizadores. Estas diferencias en vez de resultar un defecto del estudio a gran escala constituye un llamado de atención a la hora de abordar el tema en cuestión y tratarlo como un fenómeno que puede existir y ocurrir a nivel local más que como un fenómeno global, es decir, considerar que principalmente los distintos factores ambientales podrían llegar a tener más peso a la hora de sacar conclusiones del estudio.

Con respecto a las variedades de soja Erickson (1975) observó diferentes tendencias entre Chippewa 64, Hark y Corsoy sugiriendo que podría explicarse por la cantidad de flores cleistógamas y chasmógamas de cada variedad. Al parecer, el aumento del rendimiento de la soja debido a la polinización por las abejas es posible en algunas variedades pero no en todas. Según Cunha et al. (2023), el amplio rango en el grado de dependencia de la soja de los polinizadores implica diferencias en su capacidad de autofecundación que podría variar a lo largo de los gradientes latitudinales (menor dependencia de los polinizadores con el aumento de la latitud), coincidiendo con Grossenbacher et al. (2015), más allá de lo que se podría esperar de diferencias entre variedades de cultivo. Además, agrega que las plantas pueden ser más autógamas si se producen flores cleistógamas, o aumentar el cruzamiento si se producen más flores chasmógamas o se expresa androesterilidad. Estos mecanismos, al estar conectados (androesterilidad asociada a la producción de flores chasmógamas) o al responder independientemente a factores ambientales, como la temperatura (Blettler et al., 2018), podrían estar relacionados con la variación latitudinal en la dependencia de los polinizadores. Sus resultados sugieren que la soja a temperaturas más cálidas y fotoperiodos más cortos se benefician más del aumento de los servicios de polinización, lo cual coincidiría con la zona del presente estudio, mientras que a temperaturas más frías y fotoperiodos más largos tienen más probabilidades de depender de la autogamia.

En contraste con estas tendencias positivas que otorga la presencia de polinizadores para la variable número de semillas, ocurre lo opuesto cuando se mide el peso de semillas entre

tratamientos donde varios autores han reportado un efecto negativo de los visitantes florales en la variable peso de semillas. Por ejemplo, Blettler et al. (2018) encontraron en su segundo año de estudio que el peso de las semillas aumentó significativamente, siendo éste un 3,5% superior cuando se excluyeron los insectos que visitaban las flores en comparación con el tratamiento no excluido. Esto coincide con Chiari et al. (2005) quienes obtuvieron que el peso medio de 100 semillas en el tratamiento descubierto fue inferior (15,26g) al cubierto sin abejas melíferas (17,80g; $P=0,0001$). Refuerzan lo anterior los valores obtenidos por Cunningham Minnick et al. (2019) con una tendencia a la disminución de la masa de semillas en las plantas abiertas ($-0,053 \pm 0,078$). En los tratamientos donde las plantas excluidas (sus semillas se originan únicamente por autopolinización) dan valores mayores, una posible justificación sería que cuando la disponibilidad de asimilados por semilla se reduce por un mayor número de semillas por unidad de superficie en un entorno similar para el llenado de semillas, se puede anticipar una reducción del peso de las semillas (Blettler et al., 2018). De la misma manera Chiari et al. (2005) concluyeron que el mayor peso encontrado en las semillas originadas por autopolinización podría ser consecuencia de una mayor cantidad de nutrientes disponibles para su desarrollo. En cuanto a los valores de peso de semillas obtenidos en este trabajo, si bien dieron en un aumento, este valor fue de tan solo 0,16 g mayor en las plantas expuestas. Esta diferencia es considerablemente baja como para representar un beneficio de los polinizadores coincidiendo con la frecuencia de visitas baja registrada. Lo mismo ocurre con el número de vainas en este estudio. Mientras que, otros autores hallaron que el tratamiento excluido fue menor que el observado en el tratamiento expuesto con valores de 90,71%, 24,4%, 20,4% y 13,16% en Chiari et al. (2005), Cunningham Minnick et al. (2019), Erickson et al. (1978) y Milfont et al. (2013) respectivamente. Con respecto a las semillas vanas, Erickson et al. (1978) mencionaron en su artículo que las vainas vacías (con semillas vanas) fueron un 18,6% menos numerosas en el tratamiento con abejas y que esos datos muestran una ligera tendencia a un mayor número de semillas por vaina, pero, aunque consistente, la diferencia no fue significativa. En el presente estudio el número total de semillas vanas también fue menor (10,1% menos) en el expuesto, sin que existiera diferencia estadística significativa entre tratamientos, lo cual es lógico ya que ninguna variable productiva respondió a las abejas ni se observaron visitas.

CALIDAD DE SEMILLAS

Los cultivos y las distintas variedades difieren en sus valores nutricionales (proteínas, vitaminas, lípidos y minerales). La contribución nutricional de muchos cultivos de polinización animal en términos de proteínas, aminoácidos esenciales, vitaminas y minerales

puede ser mucho más importante para la dieta humana de lo que sugiere la masa total de producción (Steffan Dewenter et al., 2005). Los valores de contenido de lípidos y proteínas obtenidos del análisis NIR se correspondieron con los promedios obtenidos durante la campaña 2021/22 por el Laboratorio de Calidad Industrial y Valor Agregado de Cereales y Oleaginosas de INTA Marcos Juárez. Estos valores promedios fueron 35,8% de proteína y 22,6% de lípidos (aceites), los cuales también se aproximan a los promedios normales históricos de la especie soja de los últimos 19 años, los cuales fueron de 37,4% y 22,9% de proteína y lípidos respectivamente (Cuniberti et al., 2022). Estos valores también se aproximan a los obtenidos por otros estudios similares en soja en donde se aplicaron los mismos tratamientos de exclusión como por ejemplo el de Chiari et al. (2005) ($36,69 \pm 1,08\%$ de proteína bruta y $20,24 \pm 1,12\%$ de lípidos, sin diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos). Coincidiendo con dicho autor y con los resultados del presente estudio, Milfont (2012) tampoco encontró diferencias significativas (22% en plantas expuestas y 21,83% en las excluidas), sugiriendo que las abejas no influyen la variable calidad de semillas. Aunque Blettler (2014) obtuvo en los valores diferencias significativas entre tratamientos con la cantidad de proteínas (37,3% y 36,3% de proteínas en plantas expuestas y excluidas respectivamente) y no con la cantidad de lípidos. Por otro lado, Palombo (2017) encontró que el contenido de aceite promedio fue de 20,63% en plantas expuestas a polinizadores y de 18,91% en plantas excluidas, lo que representa un incremento del 9,1% por efecto del tratamiento, siendo los resultados estadísticamente significativos, y demostraría una clara influencia de los polinizadores sobre la acumulación de aceite en semillas de soja.

Si bien para el caso particular de la soja se menciona una relación inversa entre el contenido de proteínas y el de lípidos (Cuniberti & Herrero, 2006), es decir, que el aumento de una variable ocurre en detrimento de la otra, algunos de los trabajos citados sugieren un efecto positivo de la presencia de polinizadores en al menos una de estas variables lo cual significaría una razón importante para continuar con estudios similares en otras latitudes o con otras variedades de soja o cultivos en general.

Los patógenos hallados corresponden a especies registradas para la semilla de soja según bibliografía (Scandiani & Luque, 2009; Baigorri & Salado Navarro, 2012; MAPA, 2009). Este análisis no cuenta con antecedentes que intenten buscar una relación entre presencia de polinizadores y el desarrollo de patógenos que sirvan de comparación y obtención de conclusiones al respecto. Por tal motivo la información obtenida resulta un punto de partida importante para posteriores análisis similares y estudios más dirigidos al cultivo de las hifas que desarrollan en las anteras encontradas por Santone et al. (2022). El único patógeno que

tuvo mayor incidencia en el tratamiento expuesto fue *Cladosporium* lo que podría sugerir una posible asociación con la presencia de polinizadores.

El estrés de los cultivos ante la falta de precipitaciones, lo cual coincide con las condiciones atravesadas por las plantas muestreadas en el presente trabajo, los torna más susceptibles a ser colonizadas por patógenos del género *Alternaria* (Baigorri & Salado Navarro, 2012). Dicho patógeno fue uno de los más abundantes encontrados en el presente estudio.

Los patógenos *Aspergillus niger*, *Epicocum* sp., *Trichothecium* sp., *Colletotrichum* sp., *Chaetomium* sp. y *Cercospora sojina*, aparecen con poca abundancia y únicamente en las semillas de plantas excluidas. Este resultado inicialmente sugiere que estarían desvinculados de las visitas.

Conocer la sanidad de la semilla de soja es importante para evitar o reducir la dispersión de los patógenos perjudiciales para el cultivo durante su ciclo vegetativo y reproductivo, que pueden afectar la calidad de las semillas y transmitirse a través de ellas a las generaciones siguientes (Scandiani & Luque, 2009). Los patógenos hallados en el presente trabajo son responsables de diferentes enfermedades que se presentan en diferentes etapas del ciclo del cultivo. Entre ellas se pueden citar podredumbre de raíces, tizón de tallo y vaina, tizón de las hojas, mancha púrpura, entre otros (Pioli et al., 2000; Carmona et al., 2015). La determinación y el control de los patógenos que infectan la semilla son herramientas necesarias para disminuir los riesgos y aumentar la productividad agrícola (Scandiani & Luque, 2009). Determinar el rol de los polinizadores como posibles dispersores de esporas de patógenos es de suma importancia en este contexto. En esta primera aproximación a la posible asociación entre patógenos y polinizadores, los resultados están indicando poca incidencia, no obstante el tema resulta ampliamente promisorio y debería ser profundizado.

CONCLUSIONES

De los resultados del presente estudio se desprende que el conjunto de morfoespecies de insectos identificadas se corresponde con visitantes florales habituales del cultivo de soja y que, algunas de estas constituyen potenciales polinizadores. Los valores de riqueza fueron similares entre ambos sitios, mientras que la diversidad fue mayor en la localidad de Zavalla. A pesar de haber sido capturados visitantes florales, el registro de visitas fue nulo en los periodos de muestreo haciendo consistente este resultado con las diferencias no significativas halladas en las variables productivas y de calidad. Los cultivos de gran extensión como la soja pueden ser parches del paisaje que permiten el movimiento de abejas, a pesar de no proveer de recursos de alimentación.

Este es el primer estudio donde se realiza una aproximación a la relación entre la polinización y dispersión de patógenos. Los resultados sugieren una escasa relación dado que no se hallaron patógenos exclusivos en las flores expuestas ya que la tasa de visitas fue baja. Sin embargo, *Cladosporium* fue más abundante en las semillas de las plantas expuestas a polinizadores, lo que si supondría que existe algún tipo de asociación positiva entre visitantes florales y la trasmisión de dicho patógeno. Algunos patógenos se hallaron únicamente en el tratamiento excluido pero en cantidades muy bajas. Conocer la biodiversidad presente en los agroecosistemas y el rol de la misma en la oferta de servicios ecosistémicos y su influencia en las variables de productividad de los cultivos, como así también la asociación entre la presencia de visitantes florales y la trasmisión de patógenos y sanidad de semillas, es de vital importancia para un sistema de producción agrícola que apunte a prácticas más agroecológicas sin dejar de satisfacer las necesidades humanas de provisión de alimentos. Por este motivo es necesario continuar con investigaciones afines a la del presente estudio.

AGRADECIMIENTOS:

A la Dra. Priscila Hanisch por su aporte con información para la identificación taxonómica de morfoespecies e imágenes de abejas. A la Ing. Agr. (M.Sc) Carina Gallo por su colaboración en el análisis de patógenos y en su identificación. Al Ing. Agr. (Ph.D) José Gerde por su ayuda en el análisis NIR. A la Dra. Patricia Torres por su colaboración en el análisis estadístico.

BIBLIOGRAFÍA

Aizen MA, Garibaldi LA, Cunningham SA, Klein AM. 2009. How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production. *Annals of Botany*, 103(9), 1579–1588. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp076>

Aizen MA, Harder LD. 2009. The Global Stock of Domesticated Honey Bees Is Growing Slower Than Agricultural Demand for Pollination. *Current Biology*, 19(11), 915–918. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.03.071>

Aizen MA, Aguiar S, Biesmeijer JC, Garibaldi LA, Inouye DW, Jung C, Martins DJ, Medel R, Morales CL, Ngo H, Pauw A, Paxton RJ, Sáez A, Seymour CL. 2019. Global agricultural productivity is threatened by increasing pollinator dependence without a parallel increase in crop diversification. *Glob Chang Biol* 25(10), 3516–3527. <https://doi.org/10.1111/gcb.14736>

Andrada AC, Tellería MC. 2005. Pollen collected by honey bees (*Apis mellifera* L.) from south of Caldén district (Argentina): botanical origin and protein content. *Grana*, 44(2), 115-122. <https://doi:10.1080/00173130510010459>

[Baigorri HEJ, Salado Navarro LR. 2012.](#) El cultivo de soja en Argentina. Vicente López. Editorial Agroeditorial. p. 440.

Baldock KC, Goddard MA, Hicks DM, Kunin WE, Mitschunas N, Osgathorpe L M, Potts SG, Robertson KM, Scott AV, Stone GN, Vaughan IP, Memmott J. 2015. Where is the UK's pollinator biodiversity? The importance of urban areas for flower-visiting insects. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1803), 20142849. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.2849>

Bartomeus I, Potts SG, Steffan-Dewenter I, Vaissiere BE, Woyciechowski M, Krewenka KM, Tscheulin T, Roberts SPM, Szentgyorgyi H, Westphal C, Bommarco R. 2014. Contribution of insect pollinators to crop yield and quality varies with agricultural intensification. *PeerJ* 2: 328. <https://doi.org/10.7717/peerj.328>

Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. 2015. “Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4.” *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1–48. [doi:10.18637/jss.v067.i01](https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01).

Blettler DC. 2014. Análisis del efecto de la polinización entomófila, especialmente asociada a *Apis mellifera* L. en soja (*Glycine max* (L) Merr). Tesis de maestría inédita - Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad de Río Cuarto.

- Blettler DC, Fagúndez GA, Caviglia OP. 2018. Contribution of honeybees to soybean yield. *Apidologie*, 49(1), 101–111. <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0532-4>
- Blettler DC, Fagúndez GA, Chemez DM. 2020. Relevamiento y asignación taxonómica de himenópteros potencialmente polinizadores en un cultivo de soja. *RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 46(1), p. 25-29
- Bonet Ferrer ME. 2016. Biodiversidad de abejas (Hymenoptera: Apoidea) de la flora acompañante en un cafetal con manejo rústico y ecológico de la región subcaribeña (México, Mesoamérica). Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid.
- Brosi BJ, Daily GC, Ehrlich PR. 2007. Bee community shifts with landscape context in a tropical countryside. *Ecological Applications* 17: 418–430.
- Cane JH, Minckley RL, Kervin L. 2001. Sampling bees (Hymenoptera: Apiformes) for pollinator community studies: pitfalls of pan-trapping. *Journal of the Kansas Entomological Society* 73: 208–214.
- Carmona MA, Gally ME, Grijalba PE, Sautua FJ. 2015. Evolución de las enfermedades de la soja en la Argentina: pasado y presente. *Aportes de la FAUBA al manejo integrado. Agronomía & Ambiente*, 35(1).
- Carrizo García C, Nepi M, Pacini E. 2016. It is a matter of timing: asynchrony during pollen development and its consequences on pollen performance in angiosperms - a review. *Protoplasma*, 254(1), 57-73. <https://doi.org/10.1007/s00709-016-0950-6>
- Chiari WC, Toledo V de AA, Ruvolo Takasusuki MCC, Oliveira AJB, Sakaguti ES, Attencia VM, Costa FM, Mitsui MH. 2005. Pollination of soybean (*Glycine max* L. Merrill) by honeybees (*Apis mellifera* L.). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48(1), 31–36. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132005000100005>
- Claps L, Roig S, Debandi G. 2008. Biodiversidad de artrópodos argentinos, volumen II. Editorial Sociedad Entomológica Argentina. Mendoza. p. 624.
- Coutinho JG da E, Garibaldi LA, Viana BF. 2018. The influence of local and landscape scale on single response traits in bees: A meta-analysis. *Agriculture, Ecosystem & Environment*, 256: 61–73. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.12.025>
- Cunha NL da Chacoff NP, Sáez A, Schmucki R, Galetto L, Devoto M, Carrasco J, Mazzei MP, Castillo SE, Palacios TP, Vesprini JL, Agostini K, Saraiva AM, Woodcock BA, Ollerton J, Aizen MA. 2023. Soybean dependence on biotic pollination decreases with latitude.

<https://doi.org/10.1016/j.agee.2023.108376>

Cuniberti MB, Herrero R. 2006. Factores que influyen en el contenido de proteína y aceite en la soja argentina. Informe de actualización técnica. EEA Marcos Juárez, (7).

Cuniberti M, Herrero R, Mir L, Chialvo E, Berra O, Macagno S, Pronotti M, Mansilla G. 2022. Productividad y calidad de la soja en la zona Núcleo-Sojera Campaña 2021/22.

https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_mj_soja_calidad21_22.pdf

Cunningham Minnick MJ, Peters VE, Crist TO. 2019. Nesting habitat enhancement for wild bees within soybean fields increases crop production. *Apidologie*, 50(6), 833–844.

<https://doi.org/10.1007/s13592-019-00691-y>

Dalmazzo M, Vaquero RA, Gonzáles Alsima AR, Debandi G. 2014. Hymenoptera: Halictidae. En: Roig-Juñent S, Claps LE, Morrone JJ (Eds.), *Biodiversidad de Artrópodos Argentinos Volumen 4*. Editorial INSUE - UNT, San Miguel de Tucumán, Argentina. p. 547.

Delignette-Muller ML & Dutang C. 2015. “fitdistrplus: An R Package for Fitting Distributions.” *Journal of Statistical Software*, 64(4), 1–34. [doi:10.18637/jss.v064.i04](https://doi.org/10.18637/jss.v064.i04).

Dicks BLV, Viana B, Bommarco R, Brosi B, Arizmendi C, Cunningham SA, Galetto L, Hill R, Lopes V, Pires C, Taki H. 2016. Ten policies for pollinators: what governments can do to safeguard pollination services. *Science* 354 (6315): 975-976. Doi: 10.1126/science.aai9226

Erickson EH. 1975. Effect of Honey Bees on Yield of Three Soybean Cultivars. *Crop Science*, 15(1), 84-86.

Erickson EH, Berger GA, Shannon JG, Robins JM. 1978. Honey Bee. En: *Encyclopedia of Neuroscience*. Springer Berlin Heidelberg. p. 1864–1864. https://doi.org/10.1007/978-3-540-29678-2_2248

Fernández F, Sharkey MJ. 2006. Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical. *Sociedad Colombiana de Entomología*, Bogotá. p. 870.

Fernández PC, Farina WM. 2001. Changes in food source profitability affect Nasonov gland exposure in honeybee foragers *Apis mellifera* L. *Insectes Sociaux* 48:366–371. <https://doi.org/10.1007/PL00001793>

Fetridge ED, Ascher JS, Langellotto GA. 2008. The bee fauna of residential gardens in a suburb of New York City (Hymenoptera: Apoidea). *Annals of the entomological Society of America*, 101(6), 1067-1077.

Galetto L, Aizen MA, Arizmendi MDC, Freitas BM, Garibaldi LA, Giannini TC, Lopes AV, Do Espírito Santo MM, Maués MM, Nates Parra G, Rodríguez JI, Quezada Euán JJG, Vandame R, Viana BF, Imperatriz Fonseca VL. 2022. Risks and opportunities associated with pollinators' conservation and management of pollination services in Latin America. *Ecología Austral* 32:055–076. <https://doi.org/10.25260/EA.22.32.1.0.1790>

Garibaldi LA, Morales C, Ashworth L, Chacoff N, Aizen M. 2012. Los polinizadores en la agricultura. *Ciencia Hoy*. 21, 34-43

Garibaldi LA, Steffan Dewenter I, Winfree R, Aizen MA, Bommarco R, Cunningham SA, Kremen C, Carvalheiro LG, Harder LD, Afik O, Bartomeus I, Benjamin F, Boreux V, Cariveau D, Chacoff NP, Dudenhoffer JH, Freitas BM, Ghazoul J, Greenleaf S, Klein AM. 2013. Wild Pollinators Enhance Fruit Set of Crops Regardless of Honey Bee Abundance. *Science*, 339(6127), 1608–1611. <https://doi.org/10.1126/science.1230200>

Garibaldi LA, Carvalheiro LG, Vaissière BE, Gemmill Herren B, Hipólito J, Freitas BM, Ngo HT, Azzu N, Sáez A, Åström J, An J, Blochtein B, Buchori D, García FJC, Oliveira da Silva F, Devkota K, Ribeiro M de F, Freitas L, Gaglianone MC, Zhang H. 2016. Mutually beneficial pollinator diversity and crop yield outcomes in small and large farms. *Science*, 351(6271), 388–391. <https://doi.org/10.1126/science.aac7287>

Grossenbacher D, Briscoe Runquist R, Goldberg EE, Brandvain Y. 2015. Geographic range size is predicted by plant mating system. *Ecology Letters*. 18, 706–713. <https://doi.org/10.1111/ele.12449>

Grüter C, Acosta LE, Farina WM. 2006. Propagation of olfactory information within the honeybee hive. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 60:707–715. <https://doi.org/10.1007/s00265-006-0214-0>

Hanula JL, Ulyshen MD, Horn S. 2016. Conserving pollinators in North American forests: a review. *Natural Areas Journal*, 36(4), 427-439.

Heneberg P, Bogusch P. 2014. To enrich or not to enrich? Are there any benefits of using multiple colors of pan traps when sampling aculeate Hymenoptera?. *Journal of Insect Conservation* 18, 1123–1136. <https://doi.org/10.1007/s10841-014-9723-8>

Herrera CM, García IM, Pérez R. 2008. Invisible floral lacernies: Microbial communities degrade floral nectar of bumble bee-pollinated plants. *Ecology* 89, 2369– 2376

IPBES (Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services). 2016. The assessment report of the intergovernmental science-policy platform on biodiversity and ecosystem services on pollinators, pollination and food production (S. G. Potts, V. L. Imperatriz Fonseca, & H. T. Ngo (eds.)). <https://ipbes.net/assessment-reports/pollinators>. Accessed March 2020.

Issa MRC, Velocci MEP, Gonçalves LS, Soares AEE. 1984. Ensaio de polinização da soja (*Glycine max*) por abelhas (*Apis mellifera*). Em: Congresso Brasileiro de Apicultura, 5.

Jost L, González Oreja J. 2012. Midiendo la diversidad biológica: más allá del índice de Shannon. *Acta zoológica lilloana* 56: 3-14.

Juárez L, Méndez Dewar G, Nava-Tablada ME. 2016. Aspectos fenológicos y actividad del polinizador de una orquídea terrestre. *Rinderesu*, 1(1), 77-84.

Jung AH. 2014. Impacto de inseticidas aplicados em soja sobre abelhas melíferas. 64 f. Dissertação (M. Sc.) – Universidade Federal de Santa Maria. Recuperado de: w3.ufsm.br/pp-gea/index.php/publicacoes/dissertacoes. Acesso: 15 de Enero 2023.

Kaluza BF, Wallace H, Heard TA, Klein AM, Leonhardt SD. 2016. Urban gardens promote bee foraging over natural habitats and plantations. *Ecology and evolution*, 6(5), 1304-1316.

Kearns CA, Inouye DW, Waser NM. 1998. Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions. *Annual review of ecology and systematics*, 29(1), 83-112.

Klein AM, Vaissière BE, Cane JH, Steffan Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T. 2006. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1608), 303–313. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>

Kremen C, Williams NM, Thorp RW. 2002. Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(26), 16812–16816. <https://doi.org/10.1073/pnas.262413599>.

Langellotto GA, Melathopoulos A, Messer I, Anderson A, McClintock N, Costner L. 2018. Garden pollinators and the potential for ecosystem service flow to urban and peri-urban agriculture. *Sustainability*, 10(6), 2047.

Lê S, Josse J, Husson F. 2008. “FactoMineR: A Package for Multivariate Analysis.” *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1–18. [doi:10.18637/jss.v025.i01](https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01).

- Levenson HK, Sharp AE, Tarpay DR. 2022. Evaluating the impact of increased pollinator habitat on bee visitation and yield metrics in soybean crops. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 331, 107901. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.107901>.
- López García GP, Mazzitelli ME, Fruitos A, González M, Marcucci B, Giusti R, Alemanno V, Barrio L, Portela J, Debandi G. 2019. Biodiversidad de insectos polinizadores y depredadores en agroecosistemas vitícolas de Mendoza, Argentina: Consideraciones para el manejo del hábitat. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 51(1), 309-322.
- Lüdecke D. 2018. “ggeffects: Tidy Data Frames of Marginal Effects from Regression Models.” *Journal of Open Source Software*, 3(26), 772. [doi:10.21105/joss.00772](https://doi.org/10.21105/joss.00772).
- MAGyP (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación). 2022. Estimaciones agrícolas: tablero de cultivos. <https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/estimaciones/tableros/tablero-cultivos.php?accion=imp>. Accedido el 1 de agosto de 2022.
- MAGyP (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación). 2021. Registro Nacional de Productores Apícolas. <https://renapa.magyp.gob.ar>. Accedido el 1 de junio de 2023.
- MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). 2009. Manual de Análise Sanitária de Sementes, Anexo do Capítulo 9 (Teste de Sanidade de Sementes) das Regras para Análise de Sementes. Brasília. Editorial Assessoria de Comunicação Social. p. 200
- Matteson KC, Ascher JS, Langellotto GA. 2008. Bee richness and abundance in New York City urban gardens. *Annals of the Entomological Society of America*, 101(1), 140-150.
- Mazzei MP, Vesprini JL, Galetto L. 2021. Non-pollinating floral visitors of the Cucurbita genus plants and their relationship with the presence of pollinating bees. *Trends in Horticulture*, 4(1), 94-102.
- MeléndeZ Ramírez V, Chablé Santos J, Selém Salas C. 2020. Polinización y polinizadores amenazados en desaparecer. *Bioagrociencias*, 13(2), 109–119.
- Michener CD. 2007. *The bees of the world*. Baltimore. Editorial The Johns Hopkins University Press. p. 953.
- Milfont MDO. 2012. Uso da abelha melífera (*Apis mellifera* L.) na polinização e aumento de produtividade de grãos em variedade de soja (*Glycine max.* (L.) Merrill.) adaptada às

condições climáticas do nordeste brasileiro. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Ceará.

Milfont MDO, Rocha EEM, Lima AON, Freitas BM. 2013. Higher soybean production using honeybee and wild pollinators, a sustainable alternative to pesticides and autopollination. *Environmental Chemistry Letters*, 11(4), 335–341. <https://doi.org/10.1007/s10311-013-0412-8>

Neves ELD, Viana BF. 2011. Pollination efficiency of *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera, Apidae) on the monoecious plants *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. and *Jatropha mutabilis* (Pohl) Baill. (Euphorbiaceae) in a semi-arid Caatinga area, northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 71, 107-113.

Palombo NE. 2017. Evaluación del efecto de polinizadores y de la configuración del agroecosistema sobre el rendimiento y la composición del aceite de semillas de soja (*Glycine max*). Tesina de grado – Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba.

Pioli RN, Benavídez R, Morandi EN, Bodrero M. 2000. Estudio epidemiológico de enfermedades asociadas a carpelos y semillas de soja en Santa Fe, Argentina. *Fitopatología*, 35(2), 111-118.

Potts SG, Biesmeijer JC, Kremen C, Neumann P, Schweiger O, Kunin WE. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(6), 345–353. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007>

Quesada M, Martín Rodríguez S, Vázquez Reyes LD. 2022. Servicios ecosistémicos de polinización y declive de polinizadores en México. *Boletín Sociedad Científica Mexicana de Ecología (SCME)*. 2(5), 22-31.

R Core Team. 2021. R: a language and environment for statistical computing. <https://www.r-project.org/>

Reilly JR, Artz DR, Biddinger D, Bobiwash K, Boyle NK, Brittain C, Brokaw J, Campbell JW, Daniels J, Elle E, Ellis JD, Fleischer S, Gibbs J, Gillespie RL, Gundersen KB, Gut L, Hoffman G, Joshi N, Lundin O, Winfree R. 2020. Crop production in the USA is frequently limited by a lack of pollinators. *Proceedings. Biological Sciences*, 287(1931), 20200922. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0922>

- Roubik DW. 2001. Ups and downs in pollinator populations: when is there a decline? *Conservation ecology*, 5(1).
- Santone A. 2017. Efecto del servicio de la polinización entomófila sobre la productividad de cultivos de soja (*Glycine max* (L. Merr.)). Tesina de grado inédita -Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Rosario.
- Santone A, Mazzei MP, Vesprini J, Torres C, Amarilla LD, Galetto L. 2022. Pollination service and soybean yields. *Acta Oecologica*, 116, 103846. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2022.103846>
- Santos E, Mendoza Y, Vera M, Carrasco Letelier L, Díaz S, Invernizzi C. 2013. Aumento en la producción de semillas de soja (*Glycine max*) empleando abejas melíferas (*Apis mellifera*). *Agrociencia* (Uruguay), 17(1), 81-90.
- Scandiani MM, Luque AG. 2009. Identificación de Patógenos en Semilla de Soja. *Análisis de Semillas, Suplemento Especial N° 2* (ISSN 1852 – 5024): 33-42
- Silveira FA, Melo GA, Almeida EA. 2002. Abelhas brasileiras: sistemática e identificação. Belo Horizonte. p. 253.
- Siviter H, Koricheva J, Brown MJF, Leadbeater E. 2018. Quantifying the impact of pesticides on learning and memory in bees. *Journal of Applied Ecology* 55(6), 2812–2821. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13193>
- Sosenski P, Domínguez CA. 2018. El valor de la polinización y los riesgos que enfrenta como servicio ecosistémico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 89(3), 961–970. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2018.3.2168>
- Steffan Dewenter I, Potts SG, Packer L. 2005. Pollinator diversity and crop pollination services are at risk. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(12), 651–652. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.09.004>
- Stephen WP, Rao S. 2005. Unscented Color Traps for Non-Apis Bees (Hymenoptera: Apiformes). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 78(4), 373–380. <http://www.jstor.org/stable/25086288>
- Wenzel A, Grass I, Belavadi VV, Tschardt T. 2020. How urbanization is driving pollinator diversity and pollination – A systematic review. *Biological Conservation*, 241, 108321.
- Williams NM, Minckley RL, Silveira FA. 2001. Variation in native bee faunas and its implications for detecting community changes. *Conservation ecology*, 5(1).

Yamamoto M. 2009. Polinizadores do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deneger, Passifloraceae) no Triângulo Mineiro: riqueza de espécies, frequência de visitas e a conservação de áreas naturais. Tese de doutorado. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, Brasil. p. 142.

Zattara EE, Aizen MA. 2021. Worldwide occurrence records suggest a global decline in bee species richness. *One Earth*, 4(1), 114-123.