



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTORADO EN BIOLOGÍA

Evaluación de factores determinantes de la productividad en
cultivos dependientes de la polinización entomófila

Pablo Luis Hünicken

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

(Año 2022)

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Biología, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia durante el período comprendido entre el 2 de julio de 2019 y el 25 de marzo de 2022, bajo la dirección del Dr. Lucas Alejandro Garibaldi (IRNAD, UNRN | CONICET) y la Dra. Ana Elena de Villalobos (UNS, CERZOS CONICET).



Pablo L. Hünicken



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el / / , mereciendo
la calificación de (.....)

RESUMEN

La polinización entomófila es determinante en la producción agrícola, ya que más del 70 % de las especies cultivadas se benefician en mayor o menor medida de la misma, es decir son dependientes en algún grado de la polinización. Mientras que existe consenso sobre el nivel deficitario de la polinización entomófila en los sistemas agrícolas, la manera en la que ésta interactúa con otros factores de la producción agrícola, lo que podría brindar nuevas o más eficientes pautas de manejo, permanece relativamente inexplorada. Esta interacción debería estudiarse, entonces, en relación con factores que se manejan en los sistemas agrícolas, como la nutrición de los cultivos. Al mismo tiempo es necesario investigar cómo interactúan entre sí los polinizadores manejados. A su vez, el estudio de la interacción entre la polinización y el tiempo, o cómo la variación de la polinización entomófila modula la estabilidad espacial y temporal del rendimiento agrícola, también puede brindar nuevas pautas de manejo. Esta tesis tiene como objetivo estudiar la interacción de la polinización entomófila con otros factores manejados en los sistemas agrícolas, para profundizar nuestro entendimiento del vínculo entre la polinización, el manejo agrícola, y la cantidad, calidad y estabilidad del rendimiento de cultivos dependientes de la polinización animal. En primer lugar, se analizó la interacción entre la polinización y el estado nutricional de árboles de pera y manzana (dos cultivos dependientes de la polinización animal) en relación con el rendimiento. Se encontró que dichos factores no interactúan entre sí (i.e. su efecto es aditivo) y que el efecto positivo de la polinización entomófila es más determinante para el rendimiento que el estado nutricional. En segunda instancia, se estudió cómo la polinización afecta la estabilidad del rendimiento de estos cultivos. Se comprobó que existe una relación positiva: a mayor nivel de polinización, mayor estabilidad del rendimiento. Además, cuando la polinización es menos estable en el espacio y el tiempo, la estabilidad del rendimiento también disminuye. Finalmente, se comparó mediante un meta-análisis el efecto del uso del polinizador manejado más masivamente utilizado para

polinización de cultivos, la abeja de la miel (*Apis mellifera*) con el de otros polinizadores manejados alternativos (*Bombus* spp., *Osmia* spp. y otros) sobre la productividad de cultivos dependientes de la polinización, así como posibles interacciones entre polinizadores. Mientras que no se halló diferencia en la productividad de los cultivos en función de la especie de polinizador, aquellos estudios en los que se incluyeron varias especies de polinizadores manejados tenían mejores índices de productividad que aquellos solo con *Apis mellifera*. Asimismo, se encontró un efecto sinérgico al incluir otra especie de polinizador junto con *Apis mellifera*. La evaluación de estos distintos aspectos revela que la polinización es un factor fundamental que mejora el rendimiento de los cultivos dependientes de la polinización, tanto en niveles absolutos de cantidad y calidad, como en la estabilidad del mismo. Entender a la polinización como un recurso clave de la producción agrícola, e incluir el manejo de la polinización dentro de las prácticas agrícolas permitirá avanzar hacia una agricultura sustentable.

ABSTRACT

Entomophilous pollination is decisive in agricultural production, since more than 70 % of cultivated species benefit to a greater or lesser extent from it, that is, they are dependent to some degree on pollination. While there is consensus on the deficient level of entomophilous pollination in agricultural systems, the way in which it interacts with other factors of agricultural production, which could provide new or more efficient management practices, remains relatively unexplored. This interaction should be studied, then, in relation to factors that are managed in agricultural systems, such as crop nutrition. At the same time it is necessary to investigate how managed pollinators interact with each other. In turn, the study of the interaction between pollination and time, or how the variation of entomophilous pollination modulates the spatial and temporal stability of agricultural yield, can also provide new management guidelines. This thesis aims to study the interaction of entomophilous pollination

with other managed factors in agricultural systems, to deepen our understanding of the link between pollination, agricultural management, and the quantity, quality and stability of pollinator-dependent crop yields. First, the interaction between pollination and nutritional status of pear and apple trees (two crops dependent on animal pollination) was analyzed in relation to yield. It was found that these factors do not interact with each other (i.e. their effect is additive) and that the positive effect of entomophilous pollination is more determinant for yield than nutritional status. In the second instance, it was studied how pollination affects the yield stability of these crops. It was found that there is a positive relationship: the higher the level of pollination, the greater the stability of the yield. Furthermore, when pollination is less stable in space and time, yield stability also decreases. Finally, the effect of using the most massively used managed pollinator for crop pollination, the honey bee (*Apis mellifera*), was compared through a meta-analysis with that of other alternative managed pollinators (*Bombus* spp., *Osmia* spp. and others) on the productivity of pollinator-dependent crops, as well as possible interactions between pollinators. While no difference in crop productivity was found by pollinator species, those studies that included several managed pollinator species had better productivity indices than those with only *Apis mellifera*. Likewise, a synergistic effect was found by including another species of pollinator together with *Apis mellifera*. The evaluation of these different aspects reveals that pollination is a fundamental factor that improves the yield of crops dependent on pollination, both in absolute levels of quantity and quality, and in its stability. Understanding pollination as a key resource for agricultural production, and including pollination management within agricultural practices will allow progress towards sustainable agriculture.

Agradecimientos

A Lucas Garibaldi, quien me ha guiado en cada paso de esta tesis.

A Carolina Morales, quien con gran dedicación hizo inconmensurables aportes siempre que fue necesario.

A Ana Elena de Villalobos, por su apoyo desde la UNS.

A Grecia de Groot y Néstor Pérez-Mendez, quienes, entre otras cosas, han visto la peor cara de mis manuscritos y han sabido aconsejarme para que lleguen a buen puerto.

A Adrián González Chaves, Maria Ramos, Dulce Gómez Carella, Tatiana Machado de Souza, Eduardo Moreira, Rafaela Santos, Alberto Giroto, Joana Ferreira, Agustín Sáez y Grecia de Groot, sin quienes no hubiese sido posible recabar la información a campo.

A Nancy García, quien pacientemente me enseñó sobre las chacras del Alto Valle de Río Negro, dio el puntapié inicial del trabajo de campo, y compartió conmigo sus saberes y pareceres.

A Georg Anderson, quien compartió los datos que recabó en el valle y forman parte de esta tesis.

A Marita Alasio, quien revisó el manuscrito de esta tesis y realizó excelentes aportes para mejorar su redacción.

A Fernanda Santibañez, quien colaboró con algunas figuras de los artículos derivados de esta tesis, así como también con una figura de la propia tesis.

A los dueños y encargados de las chacras, quienes nos permitieron trabajar allí.

A Alexandra Elbakyan, quien ha permitido el acceso al conocimiento científico precedente.

Índice

PREFACIO.....	2
RESUMEN.....	3
ABSTRACT.....	4
Agradecimientos.....	6
Índice.....	7
Publicaciones derivadas de esta tesis.....	10
Capítulo 1 – Introducción general.....	11
1.1. Introducción general.....	12
1.2. Objetivo general.....	16
1.3. Objetivos específicos.....	16
1.4. Estructura de la tesis.....	17
Capítulo 2 – Interacción entre polinización y estado nutricional.....	19
2.1. Introducción.....	20
2.2. Materiales y métodos.....	21
2.2.1. <i>Sistema de estudio</i>	21
2.2.2. <i>Tratamiento de polinización y tasa de visitas</i>	24
2.2.3. <i>Estado nutricional</i>	26
2.2.4. <i>Cantidad y calidad de la fruta</i>	26
2.2.4.1. <i>Cuajado temprano y final</i>	26
2.2.4.2. <i>Calidad de la fruta</i>	27
2.2.5. <i>Análisis estadístico</i>	28
2.3. Resultados.....	29
2.3.1. <i>Tasa de visitas</i>	29
2.3.2. <i>Estado nutricional de los árboles</i>	29

2.3.3. Tratamiento de exclusión, estado nutricional y rendimiento de los cultivos.....	29
2.3.4. Tasa de visitas, estado nutricional y rendimiento de los cultivos.....	31
2.4. Discusión.....	32
2.5. Conclusión.....	35
2.6. Apéndice.....	37
Capítulo 3 – El papel de la polinización entomófila en la estabilidad del rendimiento de los cultivos	42
3.1. Introducción.....	43
3.2. Materiales y métodos.....	48
3.2.1. Sistema de estudio.....	48
3.2.2. Tratamiento de polinización.....	48
3.2.3. Tasa de visitas.....	49
3.2.4. Variabilidad espacial y temporal.....	49
3.2.5. Análisis estadístico.....	50
3.3. Resultados.....	51
3.3.1. Tendencias en la tasa de visitas.....	51
3.3.2. Efectos de la exclusión de los polinizadores.....	52
3.3.3. Efectos de la tasa media de visitas.....	54
3.3.4. Efectos del CV de la tasa de visitas.....	56
3.4. Discusión.....	57
3.5. Conclusión.....	61
3.6. Apéndice.....	63
Capítulo 4 – El manejo de la polinización a partir de polinizadores domesticados.....	66
4.1. Introducción.....	67
4.2. Materiales y métodos.....	69

4.2.1. <i>Búsqueda de literatura y recopilación de datos</i>	69
4.2.2. <i>Análisis de los datos</i>	70
4.3. <i>Resultados</i>	72
4.3.1. <i>Visión general</i>	72
4.3.2. <i>Comparaciones entre Apis y polinizadores gestionados alternativos</i>	73
4.3.3. <i>Efecto de incorporar un polinizador manejado alternativo junto con Apis</i>	74
4.3.4. <i>Evidencia de interacciones entre Apis y polinizadores alternativos</i>	76
4.4. <i>Discusión</i>	77
4.4.1. <i>Advertencias, limitaciones e investigaciones futuras</i>	79
4.5. <i>Conclusión</i>	81
4.6. <i>Apéndice</i>	82
4.6.1. <i>Bibliografía</i>	87
Capítulo 5 – <i>Discusión general</i>	93
5.1. <i>Síntesis de los principales resultados</i>	94
5.2. <i>Implicancias locales</i>	95
5.3. <i>Implicancias globales (conceptuales)</i>	97
5.4. <i>Limitaciones y perspectivas</i>	99
5.5. <i>Conclusión</i>	101
<i>Bibliografía</i>	102
<i>Anexo – Artículos publicados</i>	120

Publicaciones derivadas de esta tesis

Capítulo 2

Hünicken, P. L., Morales, C. L., García, N., y Garibaldi, L. A. (2020). Insect pollination, more than plant nutrition, determines yield quantity and quality in apple and pear. *Neotropical entomology*, 49(4), 525-532. <https://doi.org/10.1007/s13744-020-00763-0>

Capítulo 3

Hünicken, P. L., Morales, C. L., Aizen, M. A., Anderson, G. K., García, N., y Garibaldi, L. A. (2021). Insect pollination enhances yield stability in two pollinator-dependent crops. *Agriculture, Ecosystems y Environment*, 320, 107573. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107573>

Capítulo 4

Hünicken, P. L., Morales, C. L., de Villalobos A.E. y Garibaldi, L. A. (*enviado para su publicación en Agriculture, Ecosystems and Environment*) Complementary and synergistic interactions between honeybees and alternative managed pollinators: a meta-analysis of their effect on crop productivity.

Capítulo 1 – Introducción general

1.1. Introducción general

La polinización (i.e. la transferencia de polen desde los órganos masculinos de una flor hacia los femeninos) mediada por insectos contribuye a la reproducción sexual de alrededor del 90% de las plantas angiospermas (Kearns et al. 1998, Ollerton et al. 2011). De hecho, los polinizadores son determinantes en la producción agrícola ya que más del 70 % de las especies cultivadas se beneficia de la polinización entomófila, por lo que se las considera dependientes en algún grado de la polinización (Klein et al. 2007). Incluso, la agricultura en general se está volviendo más dependiente de los polinizadores: mientras que en 1961 los cultivos que dependen de la polinización entomófila representaban el 19,4 % del total del área cultivada, para 2006 eran el 32,8 % (un incremento de casi el 70 %, Aizen et al. 2019a, ver también Aizen et al. 2008). El aumento del área cultivada con cultivos dependientes de la polinización entomófila es un mecanismo para compensar el bajo incremento en el rendimiento de estos cultivos (Aizen et al. 2009). Sin embargo, la pérdida de hábitat natural o seminatural que se genera, junto con el uso intensivo de fertilizantes y pesticidas, provocan un retroceso de las poblaciones de polinizadores silvestres y domesticados, lo que afecta negativamente el rendimiento de estos cultivos (Potts et al. 2010a, Goulson et al. 2015, Kearns et al. 1998, ver también De Palma et al. 2016). Existe entonces una retroalimentación que afecta perjudicialmente no solo a la biodiversidad, sino al rendimiento agrícola. Por lo tanto, profundizar nuestro entendimiento sobre el rendimiento de los cultivos dependientes de la polinización entomófila resulta necesario para mantener una buena productividad de forma sostenible.

Mientras que es claro que la polinización entomófila afecta el éxito reproductivo de la mayoría de las especies vegetales, ya sean cultivadas o no (Klein et al. 2007; Ollerton et al. 2011), el grado en el que regula el rendimiento en los sistemas agrícolas es debatido (Ghazoul 2005). El eje de este debate se basa en que, además de la polinización, existen otros factores que afectan al rendimiento final del cultivo, como la disponibilidad de luz, agua, el estado nutricional de la planta,

o la acción de plagas y enfermedades, entre otras (e.g. Niesenbaum 1993; Bos et al. 2007; Ghazoul 2007). De hecho, el aparente exceso de flores en las plantas hermafroditas es propuesto como un mecanismo de “aseguramiento” ante las fluctuaciones en la abundancia de polinizadores o mermas del estado nutricional de la planta (Burd 1998, Brown y McNeil 2006). Desde este punto de vista, el rendimiento potencial de un cultivo puede verse limitado por cualquiera de estos dos factores. Incluso, el estado nutricional o la polinización podrían limitar simultáneamente al rendimiento (Rubio et al. 2003). Por este motivo, resulta útil estudiar el grado en el que cada uno de estos factores modula el rendimiento.

Por otra parte, el estado nutricional de las plantas puede interactuar con la polinización y dicha interacción puede ser positiva (también llamada sinérgica), negativa (o redundante) o nula (es decir no hay interacción). Por ejemplo, plantas bien nutridas suelen tener flores más atractivas o producir mayor cantidad de néctar o polen para los polinizadores, lo que resulta en mayores niveles de polinización (i.e. interacción positiva o sinérgica, Muñoz et al. 2005). Otro ejemplo de interacción, en este caso negativa o redundante, fue hallado por Marini et al. (2015): con un diseño factorial, aplicaron a plantas de colza tratamientos de fertilización y exclusión de polinizadores. El rendimiento fue mayor con el acceso de los polinizadores a las plantas que aquellas plantas excluidas, pero dicho incremento fue mayor en aquellas plantas que no habían sido fertilizadas. Una ausencia de interacción sería el caso en el que los efectos del estado nutricional de la planta y la polinización sean aditivos (e.g. Van Gils et al. 2016). Sin embargo, la mayoría de los estudios realizados hasta el momento se enfocaron en analizar el efecto de uno solo de estos factores sobre el rendimiento y únicamente analizaron niveles contrastantes de los mismos (Garibaldi et al. 2018). De esa manera no es posible cuantificar la forma que tiene la respuesta del rendimiento, así como tampoco la interacción entre estos factores (Groeneveld et al. 2010). Además, si se tiene en cuenta que el rendimiento varía cuantitativamente, pudiendo llegar a saturarse con la adición de un recurso,

resulta fundamental medir esta variación a lo largo de un gradiente en la adición del recurso (Ruel y Ayres 1999, Rubio et al. 2003).

En la naturaleza, la limitación polínica, es decir, la disminución en el éxito reproductivo (como así también en el rendimiento de un cultivo) producto de un déficit en la cantidad o calidad del polen que llega al estigma, ocurre frecuentemente (Burd 1994, Knight et al. 2005, Aizen y Harder 2007). Esta limitación varía entre años e incluso sitios en una misma población (Burd 1994, Ashman et al. 2004), principalmente por la variación en el proceso de polinización (Aizen y Harder 2007). Sin embargo, el efecto de esta variación sobre la variabilidad del rendimiento de los cultivos pocas veces ha sido estudiada (e.g. Kremen et al. 2004, Klein 2009, Geeraert et al. 2020). Pueden citarse dos estudios que han informado, a escala global (Garibaldi et al. 2011a) y de país (Deguines et al. 2014), patrones que apuntan a la polinización animal como factor relevante en la estabilidad del rendimiento en cultivos dependientes de polinizadores.

Por otra parte, el rendimiento medio y su variabilidad deberían explorarse no sólo en función de los valores medios de polinización, sino también en función de la variabilidad de la polinización en sí. Dicha variabilidad puede definirse como la que existe entre ensambles de polinizadores, considerando su riqueza o diversidad en el espacio o en el tiempo (Geeraert et al. 2020, Klein 2009). Sin embargo, la polinización de una gran proporción de cultivos se basa en pocas o incluso una sola especie de polinizador (Klein et al. 2007). Por este motivo resulta necesario desarrollar un marco conceptual que permita estudiar la variación en el rendimiento asociada a la variación en un parámetro cuantitativo del proceso de polinización (i.e. frecuencia de visitas florales).

La polinización entomófila es un proceso en el que interactúan dos formas de vida: una vegetal y otra animal. Además, los insectos encargados de la polinización pueden interactuar entre sí. De hecho, uno de los mecanismos propuestos para explicar por qué ensambles diversos de polinizadores mejoran el rendimiento es el efecto sinérgico entre las especies (Winfree y Kremen 2009). Sin embargo, como se ha dicho anteriormente, muchos paisajes agrícolas han devenido

exclusivamente dependientes de polinizadores manejados, como consecuencia de prácticas agrícolas que condicionan el establecimiento y desarrollo de poblaciones viables de polinizadores silvestres en los agroecosistemas. Así, es cada vez más frecuente la utilización de polinizadores manejados (Osterman et al. 2021), de los cuales la abeja de la miel, *Apis mellifera*, es el más difundido globalmente (Paudel et al. 2015). Además de *Apis mellifera*, especies de abejorros (*Bombus* spp) y abejas solitarias como *Osmia* spp o *Megachile* spp, entre otras, forman parte de las 66 especies de insectos que han sido o buscan ser criadas (Osterman et al. 2021). En consecuencia, conocer el desempeño de polinizadores manejados alternativos a *Apis mellifera*, o el efecto de incluir en un sistema polinizadores manejados alternativos junto con *Apis mellifera*, puede permitir un manejo de la polinización más eficiente o brindar nuevas prácticas de manejo agrícola.

Dentro de los cultivos que dependen de la polinización animal se destacan los árboles frutales de la familia Rosaceae, como los manzanos (*Malus domestica*) y los perales (*Pyrus communis*). Ambos cultivos tienen flores perfectas (es decir, órganos femeninos y masculinos en la misma flor); altamente auto incompatibles, por lo que dependen de la polinización cruzada para dar fruto (Jackson 2003, Maccagnani et al. 2003, Ramírez y Davenport 2013). Según las categorías de Klein et al. (2007), ambos cultivos dependen en gran medida de los polinizadores (es decir, la producción disminuye entre un 40 % y un 90 % en ausencia de polinizadores). Aunque las flores de ambos cultivos tienen nectarios, la cantidad y concentración de azúcar difiere: las flores de manzana producen un mayor volumen de néctar con mayor concentración de azúcar en comparación con las flores de pera (Farkas y Orosz-Kovács 2003, Jackson 2003, Maccagnani et al. 2007, Díaz et al. 2013). Los principales países donde se cultivan estos frutales difieren en sus prácticas de manejo. En China, primer productor mundial de manzana y pera, el riego depende casi exclusivamente de las precipitaciones y la polinización se realiza de manera manual (Na et al. 2016). Por su parte, en Estados Unidos de América, segundo productor mundial de manzana y pera, el riego se realiza mediante goteo o aspersión, y la polinización a partir de poblaciones silvestres de polinizadores

compuestas por especies como *Osmia* spp. y *Bombus* spp., aunque también es suplementada con colmenas de *Apis mellifera* (Fallahi 2012, Ellis 2012).

Aproximadamente el 90 % de la superficie implantada de peras y manzanas a nivel nacional de Argentina se concentra en el Alto Valle de Río Negro y Neuquén (Avellá et al. 2018). Este sistema consiste en un valle de irrigación desarrollado en la provincia biogeográfica del Monte (Cabrera 1976). Esta provincia presenta vegetación xerófila, consistente con las escasas precipitaciones (~200 mm anuales, Cabrera 1976). En este sistema, la polinización se percibe como un limitante en la producción, y el manejo de un solo polinizador, *Apis mellifera*, como la única alternativa existente para reducir cualquier déficit de polinización (Ugalde y García-Sartor 2014). Particularmente, este hecho está relacionado con una casi total ausencia de polinizadores silvestres, lo que se puede asociar tal vez a un uso intensivo de agroquímicos o a una falta natural de polinizadores silvestres en esta región (Tadey 2015, 2016). De hecho, un estudio previo a esta tesis ha revelado que el 99 % de los visitantes florales en este sistema está constituido por *Apis mellifera* (Geslin et al. 2017).

Las características descriptas de este sistema permiten abordar algunos de los interrogantes establecidos previamente para esta investigación. En primer lugar (**capítulo 2**), se evaluó a lo largo de dos temporadas productivas la interacción entre el estado nutricional y la polinización de los frutales. Luego (**capítulo 3**), se construyó, con los datos presentados en el capítulo 2 y los de dos años previos del mismo sistema, una serie temporal de cuatro años para evaluar el efecto de la variabilidad espacial y temporal de la polinización sobre el rendimiento. Finalmente (**capítulo 4**), mediante una revisión bibliográfica con enfoque meta-analítico, se evaluó el efecto de *Apis* en relación a otros polinizadores, así como la interacción entre *Apis* y polinizadores manejados alternativos, sobre el rendimiento de cultivos dependientes de la polinización. En consecuencia, la presente tesis ha avanzado en la generación de un conocimiento que es directamente aplicable en el desarrollo de una agricultura sustentable.

1.2. Objetivo general

El objetivo general es estudiar la interacción de la polinización entomófila con otros factores de los sistemas agrícolas, para profundizar nuestro entendimiento del vínculo entre la polinización y la cantidad, calidad y estabilidad de cultivos dependientes de la polinización animal.

1.3. Objetivos específicos

El primer objetivo (**capítulo 2**) consistió en evaluar la interacción entre la polinización y el estado nutricional de cultivos dependientes de la polinización a lo largo de gradientes de ambos factores.

Preguntas asociadas: *¿Interactúan la polinización y el estado nutricional de estos cultivos? ¿De qué manera (negativa, aditiva, sinérgica) interactúan? ¿Cuál de los dos factores es más preponderante sobre la productividad?*

El segundo objetivo (**capítulo 3**) fue evaluar el efecto de la polinización sobre la estabilidad del rendimiento de cultivos dependientes de la polinización. Para ello, se consideraron los valores medios y la estabilidad de la polinización, medida como tasa de visitas florales. Asimismo, se estudió el efecto de la exclusión de polinizadores sobre el rendimiento medio y su estabilidad.

Preguntas asociadas: *¿Existe una relación entre los niveles medios de polinización y la estabilidad del rendimiento en estos cultivos? ¿Cuál es la relación entre la estabilidad de la polinización y los niveles medios del rendimiento? ¿Cuál es la relación entre la estabilidad de la polinización y la estabilidad del rendimiento?*

El tercer objetivo (**capítulo 4**) fue comparar el efecto de *Apis mellifera* y polinizadores manejados alternativos sobre la productividad de cultivos dependientes de la polinización, así como también evaluar posible interacción entre los mismos. Con un abordaje de meta-análisis, se analizaron tres diseños experimentales: aquellos que compararon la productividad en cultivos polinizados por *Apis mellifera* vs polinizadores manejados alternativos; aquellos que evaluaron el

efecto de incorporar un polinizador manejado alternativo junto con *Apis mellifera*; y aquellos que evaluaron la interacción entre *Apis mellifera* y los polinizadores manejados alternativos. **Preguntas asociadas:** *¿Hay una diferencia entre Apis mellifera y polinizadores manejados alternativos en la productividad de cultivos dependientes de polinizadores? ¿Hay evidencia de interacción entre Apis mellifera y polinizadores manejados alternativos?*

1.4. Estructura de la tesis

En la Figura 1.1 se presenta la estructura de la tesis.

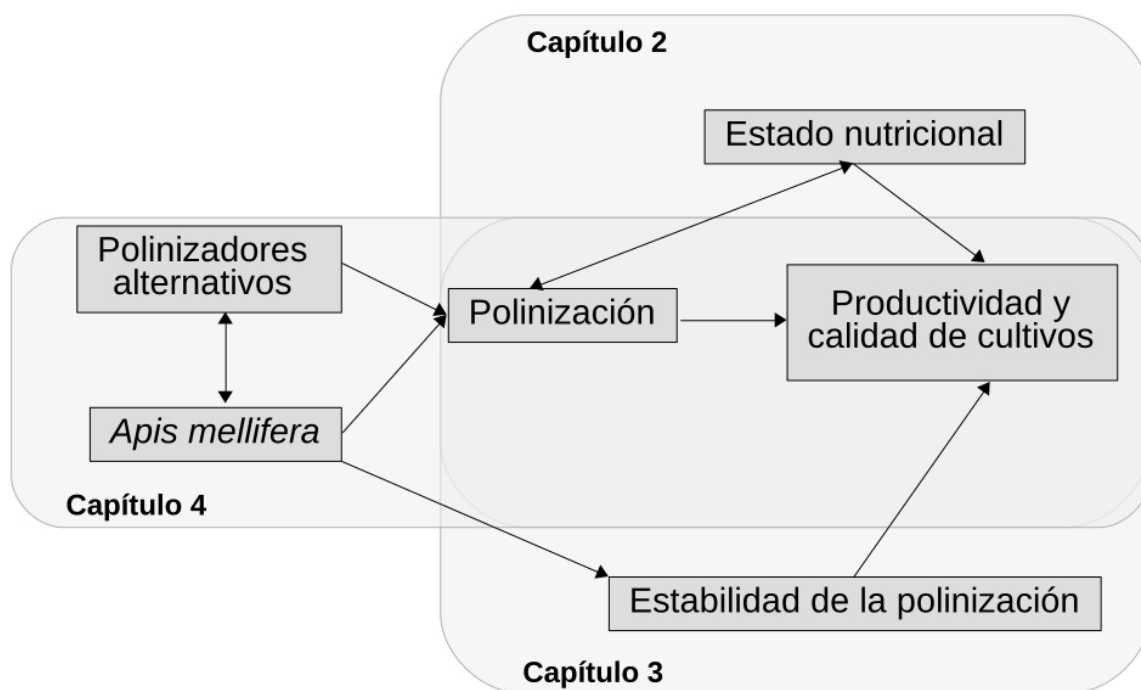


Figura 1.1 – Mapa conceptual que representa la estructura de la tesis. Los recuadros gris oscuro representan conceptos o actores. Las flechas bidireccionales representan interacciones. Las flechas direccionales representan relación o efecto. Los recuadros gris claro agrupan los conceptos y relaciones que se desarrollan en el capítulo indicado.

Capítulo 2 – Interacción entre polinización y estado nutricional

Adaptado de: Hünicken, P. L., Morales, C. L., García, N., y Garibaldi, L. A. (2020). Insect pollination, more than plant nutrition, determines yield quantity and quality in apple and pear. *Neotropical entomology*, 49(4), 525-532. <https://doi.org/10.1007/s13744-020-00763-0>

2.1. Introducción

En el siglo pasado, el rendimiento agrícola (e.g. $\text{tn} \cdot \text{ha}^{-1}$) fue mejorado aumentando los insumos de fertilizantes, plaguicidas e introduciendo modificaciones genéticas (i.e. intensificación convencional de la agricultura, Matson et al. 1997, Tilman et al. 2002). Estas prácticas conllevan consecuencias drásticas para el medio ambiente y la biodiversidad (e.g. degradación del hábitat y pérdida de biodiversidad, Matson et al. 1997, Tilman 1999). Esto implica que, aunque la agricultura convencional logra buenos resultados a corto plazo, resulta ineficaz para mantenerlos en el largo plazo, porque daña los procesos de los ecosistemas que pueden sostener la producción (Matson et al. 1997, Brummer 1998). Alcanzar una producción agrícola sostenible y respetuosa con el medio ambiente es, por tanto, un gran desafío en este tiempo.

El rendimiento de los cultivos es el resultado de múltiples factores que actúan simultáneamente sobre la producción agrícola, algunos de ellos son naturales, derivados de procesos biofísicos y/o ecológicos (e.g. polinización, ciclado de nutrientes), y otros son insumos agrícolas (e.g. fertilización, riego, control químico de plagas y malezas). A pesar de esto, las investigaciones generalmente se enfocan solo en uno o dos factores a la vez y comparan niveles contrastantes de ellos, por lo que las tendencias no lineales, que se espera encontrar en la respuesta del rendimiento a la variación de algún factor, no pueden detectarse (Ruel y Ayres 1999). Por ejemplo, una revisión reciente encontró nueve estudios (solo tres en cultivos perennes) que evalúan la interacción entre la polinización y la fertilidad/fertilización del suelo (Garibaldi et al. 2018). Estos estudios no solo son escasos, sino que también muestran resultados opuestos: ninguna interacción entre polinización y fertilidad (Groenvelde et al. 2010, Boreaux et al. 2013, Bartomeus et al. 2015, Klein et al. 2015, van Gils et al. 2016), los beneficios de la polinización maximizados a niveles bajos o intermedios de nutrientes (Marini et al. 2015, Tamburini et al. 2017), y los beneficios de la polinización maximizados a niveles altos de nutrientes (Tamburini et al. 2016), destacando la naturaleza

idiosincrática de estas interacciones y la necesidad de más estudios en este campo para detectar patrones más robustos.

Como se expuso en el capítulo 1, los polinizadores son determinantes para la producción agrícola, ya que el 70% de las especies cultivadas se benefician de la polinización animal (Klein et al. 2007). De manera alarmante, tanto los polinizadores silvestres como los domesticados están siendo amenazados por la intensificación convencional de la agricultura, lo que compromete la polinización en los sistemas agrícolas (Potts et al. 2010a, Potts et al. 2010b, González-Varo et al. 2013, Aizen et al. 2019). Esto es de particular preocupación, porque la agricultura global depende cada vez más de la polinización animal (Aizen et al. 2008, Aizen et al. 2019a). Comprender el grado en que la polinización y otros factores modulan el rendimiento de los cultivos y cómo interactúan estos factores entre sí es clave para desarrollar prácticas de manejo que mejoren el rendimiento de los cultivos y minimicen el impacto en la biodiversidad y el ambiente.

En el presente capítulo, se evalúa la interacción entre la polinización y el estado nutricional de las plantas en el rendimiento, considerado tanto cuantitativamente (i.e. cantidad de frutos) como cualitativamente (i.e. calidad de los frutos), de dos cultivos: manzano (*Malus domestica*) y pera (*Pyrus communis*). A partir de experimentos manipulativos y observacionales se plantea responder las siguientes preguntas: (1) ¿Interactúan la polinización y la nutrición de las plantas? Si es así, ¿de qué manera? y (2) ¿Cuál de estos factores, la polinización o la nutrición de las plantas, es más preponderante sobre el rendimiento?

2.2. Materiales y métodos

2.2.1. Sistema de estudio

Este estudio se realizó durante las temporadas australes 2017-2018 y 2018-2019 (en adelante 2018 y 2019, respectivamente), desde la floración en septiembre hasta la cosecha en marzo. El área de estudio es un valle de riego inmerso en la árida estepa de la Patagonia Argentina, conocido como el

"Alto Valle de Río Negro y Neuquén". Esta región concentra ~90 % de la producción argentina de peras y manzanas (Avellá et al. 2018). Por lo general, las chacras se manejan de manera convencional, con un alto uso de pesticidas y fertilizantes (Geslin et al. 2017). El riego se realiza inundando completamente la parcela. Además, el arado de la capa superior del suelo entre hileras de árboles es una práctica recurrente. El manejo de la polinización implica la disposición de colmenas de abejas (*Apis mellifera*) en las chacras durante la época de floración de los cultivos, que comienza con la floración de la pera y continúa con la de la manzana. Generalmente, el inicio de la floración de la manzana se superpone con el final de la floración de la pera (Díaz et al. 2013). En diciembre se realiza un raleo químico de los manzanos para reducir la cantidad de frutos pequeños. La abundancia de polinizadores silvestres durante el período de floración de peras y manzanas es cercana a cero en estas granjas (Geslin et al. 2017, Pérez-Mendez et al. 2020).

Las chacras seleccionadas se encuentran cerca de la localidad de San Patricio del Chañar, provincia de Neuquén (aprox. 38 ° 37 ' S, 68 ° 18 ' W, Figura 2.1). Las mediciones se realizaron en diez árboles por chacra, en ocho chacras de manzanas por temporada, y en siete y seis chacras de peras en las temporadas 2018 y 2019 respectivamente. Todas las chacras de cada cultivo están separadas entre sí por al menos 1,5 km. Todas utilizan la inundación del campo para el riego (excepto una, que utiliza riego por goteo) y aplican los mismos fertilizantes (estiércol y fertilizante foliar). Los árboles de cada chacra se distribuyen en hileras, cada hilera contiene una sola variedad y las hileras alternas son de diferentes variedades. Para realizar las mediciones se seleccionaron árboles de la misma fila, por lo que se controló el efecto de la distancia a otra variedad. Las variedades de cultivo seleccionadas fueron *Packham's Triumph* para la pera y *Red Delicious* para la manzana, dos variedades típicas que se cultivan en esta región. Las características florales y requerimientos de polinización de estas especies fueron detalladas en el capítulo 1.

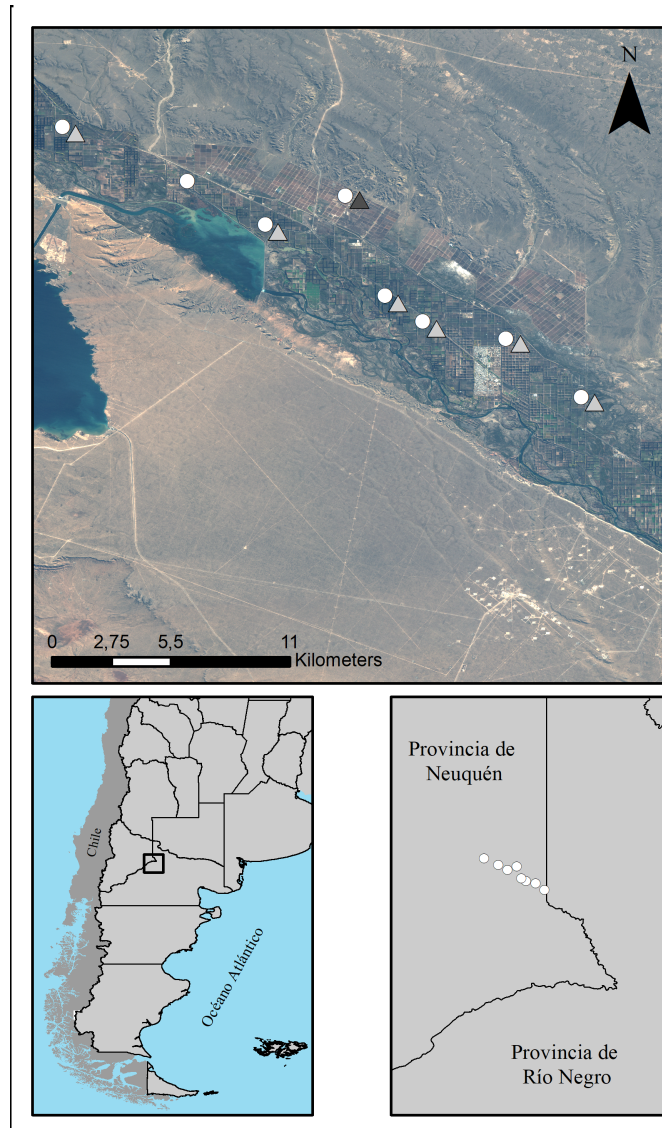


Figura 2.1 – Área de estudio. Las chacras de manzana están representadas con círculos, mientras que las de pera están representadas con triángulos. El triángulo marcado con negro indica la chacra relevada solo en la temporada 2018. También indica la chacra que no fue incluida en los análisis del capítulo 3.



Foto 2.1 – Vista general de una de las chacras estudiadas. A la izquierda puede observarse un cuadro de pera, mientras que a la derecha se encuentra uno de manzana. En el centro un canal de riego y los tocones de antiguas cortinas de álamos.

2.2.2. Tratamiento de polinización y tasa de visitas.

Para evaluar el efecto de la polinización entomófila, se excluyeron de los visitantes florales $20,6 \pm 0,5$ (media $\pm$ DE) flores por árbol (tratamiento de exclusión, Foto 2.2) y se marcaron $27,3 \pm 0,5$ flores que permanecieron expuestas a las visitas (tratamiento abierto). La exclusión se realizó cubriendo 2 o 3 inflorescencias con bolsas de tul (tamaño de malla 2 mm) en cada árbol. En total, se realizó un seguimiento sobre 10.376 flores de manzana y 9.313 flores de pera.



Foto 2.2 – Tratamiento de exclusión de polinizadores. En la presente foto se observan dos inflorescencias de pera compartiendo una exclusión.

Durante la floración, se realizaron censos de visitas florales en todos los árboles focales (rango = 2-5 y 3-6 censos por peral y manzano respectivamente), entre las 9:00 am y las 6:00 pm y cuando la temperatura superaba los 15° C. Dependiendo de la hora del día, fueron seleccionadas al azar más o menos inflorescencias (por ejemplo, al mediodía se observaron por censo 3 o 4 inflorescencias mientras que por la mañana se observaron aproximadamente 10 inflorescencias para evitar falsos ceros), se contó el número de flores y se registró el número de flores visitadas por cada visitante floral durante un período de tiempo de 10 minutos en cada árbol (Foto 2.3). Cada chacra fue muestreada en diferentes días y en diferentes horas del día, de manera de cubrir la variación temporal diaria en la tasa de visitas. Se clasificó a los visitantes en los siguientes grupos: *Apis mellifera*, abejorros (*Bombus* spp.), sírfidos (Syrphidae) y otras especies. Se observó una media ($\pm$ DE) de $43,2 \pm 0,8$ y $33,7 \pm 0,5$ flores por árbol en cada censo de manzana y pera, respectivamente.



Foto 2.3 – Censos de visitas florales. Este censo fue desarrollado durante el riego de esta chacra, puede observarse el campo completamente inundado.

2.2.3. Estado nutricional

Para evaluar el estado nutricional de los árboles, se estimó el contenido de clorofila en 30 hojas de la porción media de cada árbol con un medidor de clorofila SPAD 502-PLUS. Este instrumento proporciona información sobre el vigor de la planta y el contenido de clorofila midiendo la absorbancia de dos longitudes de onda (aprox. 650 y 940 nm). El valor dado por el SPAD es una unidad arbitraria que va de 0 a infinito (teórico), a mayor valor, mayor vigor de la planta. Las unidades SPAD son un buen indicador del estado nutricional de los árboles y varios estudios proporcionan ecuaciones de regresión que permiten convertir las unidades SPAD en concentración de nitrógeno (Nielsen et al. 1995, Porro et al. 2001, Neto et al. 2011). Dado que el nitrógeno en hojas aumenta a lo largo de la temporada, y conforme a los protocolos desarrollados en estos trabajos, los datos fueron tomados tres meses después de la floración, en hojas provenientes de ramas de la temporada.

2.2.4. Cantidad y calidad de la fruta

2.2.4.1. Cuajado temprano y final

En diciembre de cada año, aproximadamente 12 semanas después del final de la floración y antes del período de raleo natural para las peras y raleo inducido químicamente para las manzanas, se contó el número de ovarios hinchados de las flores (i.e. frutos cuajados) en las ramas asignadas a nuestros tratamientos de apertura y exclusión, lo que fue definido como cuajado temprano. En febrero, unos días antes de la cosecha, nuevamente se contaron los frutos para calcular el cuajado final.

2.2.4.2. Calidad de la fruta

En febrero, cuando se autorizó la cosecha, fueron recolectados todos los frutos de los tratamientos para evaluar la calidad del mismo (Foto 2.4). Se midió el peso, el tamaño (altura y diámetro) y la concentración de azúcar. El peso se midió utilizando una balanza digital con 0,1 g de precisión. La altura y el diámetro se midieron con un calibre digital con una precisión de 0,1 mm. La concentración de azúcar (en % BRIX) se midió usando un refractómetro portátil con una precisión de 0,2% BRIX.



Foto 2.4 – Colecta de frutos para el análisis de su calidad. A la izquierda pueden verse peras ya colectadas y rotuladas, a la derecha una manzana siendo rotulada.

2.2.5. Análisis estadístico

Para analizar el efecto de la polinización y el estado nutricional sobre el rendimiento se estimaron modelos lineales de efectos mixtos (MLM) con el paquete 'lme4' del programa R (Bates et al. 2015, R Core Team, 2018). Se utilizaron las variables de cantidad (cuajados temprano y final) y calidad del fruto (peso, altura, diámetro y contenido de azúcar) como variables de respuesta, con una estructura de error gaussiana. Los supuestos de los modelos se comprobaron gráficamente (gráfico QQ, predicciones frente a residuos, etc.) e inferencia analítica (prueba de Kolmogorov-Smirnov).

Se realizaron dos conjuntos de modelos. En el primero, el tratamiento de polinización (factor con dos niveles: 'abierto' y 'exclusión'), contenido de clorofila (cuantitativo, en unidades SPAD) y temporada (factor con dos niveles: '2018' y '2019') y todas sus interacciones fueron modelados como efectos fijos. En el segundo conjunto de modelos, solo fueron usados los datos del tratamiento abierto, por lo que la tasa de visitas (cuantitativo, número de visitas por flor $\cdot 10 \text{ min}^{-1}$), el contenido de clorofila (cuantitativo, en unidades SPAD), la temporada (factor con dos niveles: '2018' y '2019')

y sus interacciones se modelaron como efectos fijos. En todos ellos, "chacra" y "árbol" anidado dentro de "granja", se modelaron como efectos aleatorios. Mientras que el primer conjunto de modelos permite inferir qué factor es el más preponderante sobre el rendimiento, además de su interacción, el segundo permite evaluar la respuesta del rendimiento en función del gradiente de cada factor. Se seleccionó el modelo mínimo adecuado a partir del valor de AIC (Criterio de información de Akaike) más bajo utilizando la función *dredge* del paquete 'MuMin' (Burnham et al. 2011, Barton 2018). Se calculó el valor de importancia relativa para cada variable predictiva con la función *importance* del paquete 'MuMin', que suma los "pesos de Akaike" sobre todos los modelos que incluyen dicha variable predictiva. Se realizaron correlaciones de Spearman para explorar la correlación entre variables.

2.3. Resultados

2.3.1. Tasa de visitas

Fueron registradas un total de 10.371 visitas a flores de manzana y pera en 1.048 censos de polinizadores. *Apis mellifera* fue responsable de la gran mayoría (99,7 %) de las visitas, tanto en cultivos de manzana como de pera. La tasa de visitas (visitas por flor $\cdot$ 10 min⁻¹) fue un orden de magnitud mayor en manzanos (media $\pm$ DE; 0,32 $\pm$ 0,02) que en perales (0,062 $\pm$ 0,007).

2.3.2. Estado nutricional de los árboles

Los manzanos tuvieron un valor SPAD medio ($\pm$ DE) de 41,5 $\pm$ 0,3 (rango = 29,9 - 52,1), lo que representa una concentración media de nitrógeno en las hojas de 2,45 % del peso seco (rango = 2,14 % - 2,74 %). Los perales tuvieron un valor SPAD medio ($\pm$ DE) de 42,0 $\pm$ 0,1 (rango = 33,4 - 46,0), que también representó una concentración media de nitrógeno en las hojas de 2,45% del peso seco (rango = 2,02 % - 2,64 %). Para ambos cultivos, el estado nutricional de los árboles representó un

gradiente dentro de la concentración de nitrógeno recomendada (Nielsen et al. 2003, Hoying et al. 2004).

2.3.3. Tratamiento de exclusión, estado nutricional y rendimiento de los cultivos.

El tratamiento de exclusión redujo el cuajado temprano y final casi totalmente en los manzanos, en comparación con el tratamiento abierto. En el caso de los perales, el cuajado temprano no tuvo diferencias entre los tratamientos, mientras que el cuajado final del tratamiento de exclusión fue de la mitad en comparación con el tratamiento abierto (ver Figura 2.2 y Tabla A2.1 en el apéndice). Aunque el nivel SPAD permanece en los modelos mínimos, su efecto fue irrelevante (los coeficientes estimados y la importancia relativa de las variables se detallan en la Tabla A2.1 y la Tabla A2.2 del apéndice) y no interactuó con el tratamiento de polinización.

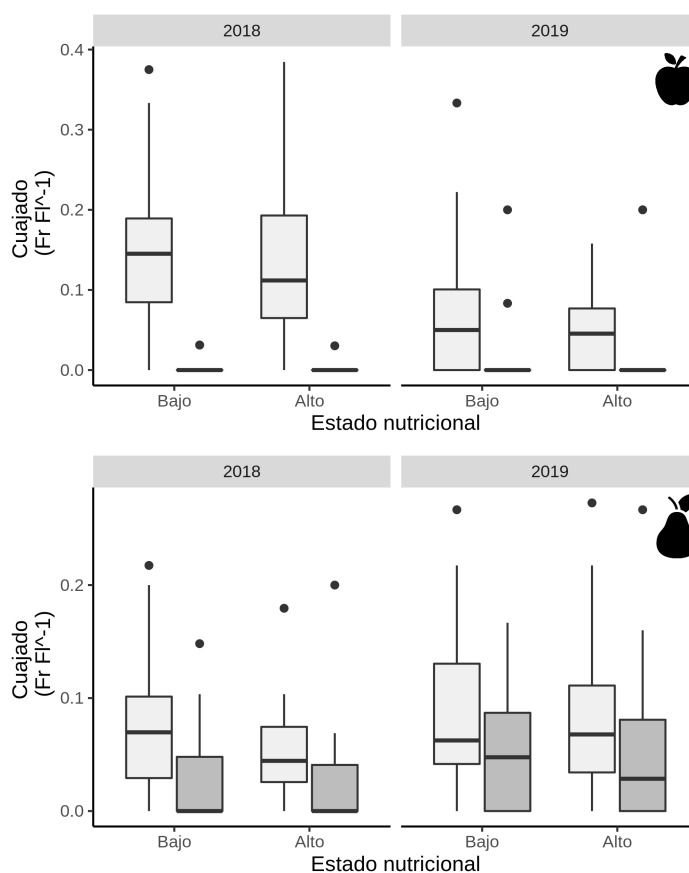


Figura 2.2 - Cuajado final de los tratamientos abierto (gris claro) y de exclusión (gris oscuro) en función del estado nutricional. Arriba: manzana; abajo: pera. Aunque el valor de SPAD es cuantitativo, los valores de cada árbol fueron estandarizados de acuerdo a la mediana de la chacra, y los valores negativos fueron categorizados como “bajo” (i.e. abajo de la mediana) y los positivos como “alto” (i.e. arriba de la mediana), para una mejor visualización. Las cajas muestran el rango inter-cuartílico (RIQ), la línea horizontal representa la mediana y los bigotes muestran el rango de $1,5 \cdot \text{RIQ}$. Notar la diferencia de escala en el eje ‘y’ entre cultivos.

Dado el bajo número de manzanas recolectadas del tratamiento de exclusión, no se pudo evaluar el efecto del mismo sobre la calidad. En el caso de las peras, la exclusión empeoró todos los indicadores de calidad del fruto, en comparación con el tratamiento abierto (en porcentaje $\pm$ DE): 10 ± 3 % de peso, 5 ± 2 % de diámetro y altura, 2 ± 1 % de contenido de azúcar. La Figura 2.3 muestra la respuesta del peso al tratamiento de polinización, dado que es representativa del resto de las variables de calidad (ver Tabla A2.3 en el apéndice, correlaciones de Spearman). No se encontró ningún efecto sustancial del nivel de SPAD o de la interacción de éste con el tratamiento de polinización.

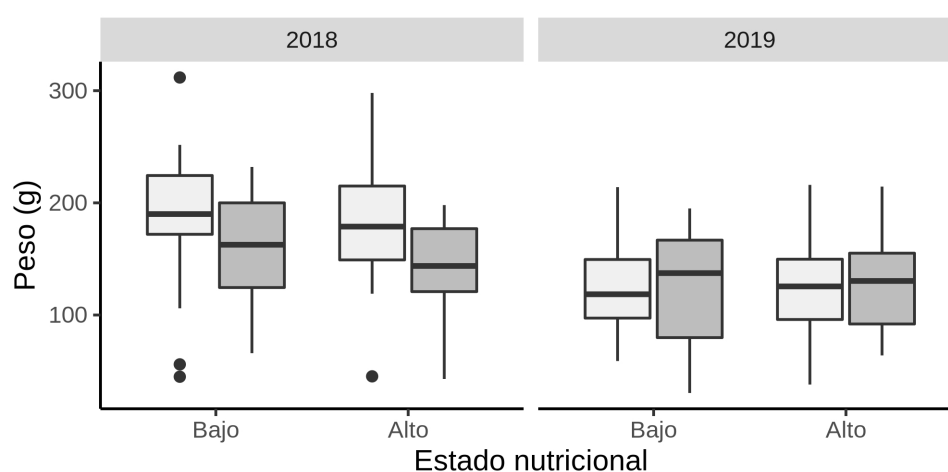


Figura 2.3 – Peso (g) de las peras del tratamiento abierto (gris claro) y de exclusión (gris oscuro) en función del estado nutricional. Aunque el valor de SPAD es cuantitativo, los valores de cada árbol fueron estandarizados de acuerdo a la mediana de la chacra, y los valores negativos fueron categorizados como “bajo” (i.e. abajo de la mediana) y los positivos como “alto” (i.e. arriba de la mediana), para una mejor visualización. Las cajas muestran el rango inter-quartílico (RIQ), la línea horizontal representa la mediana y los bigotes muestran el rango de $1,5 \cdot \text{RIQ}$.

2.3.4. Tasa de visitas, estado nutricional y rendimiento de los cultivos.

El cuajado temprano y final de frutos en ambos cultivos no se vio afectado por la tasa de visitas de los polinizadores. Sin embargo, todos los indicadores de calidad de las manzanas se relacionaron directamente con la tasa de visitas, lo que se reflejó en un incremento de (en porcentaje $\pm$ DE) 24 ± 6 % del peso, 14 ± 3 % del diámetro, 12 ± 3 % de la altura y 5 ± 4 % de la concentración de azúcar por unidad de tasa de visitas (i.e. 1 visita por flor en 10 minutos) (Figura 2.4 y Tablas A2.4 y A2.5 en el apéndice). Para las peras, la variable tasa de visitas no se mantuvo en los modelos mínimos, posiblemente por la baja magnitud y varianza que tuvieron, lo que no permitió detectar un posible efecto (ver arriba). Una vez más, no se encontró ningún efecto del nivel de SPAD o de la interacción entre este y la tasa de visitas sobre la calidad de las peras.

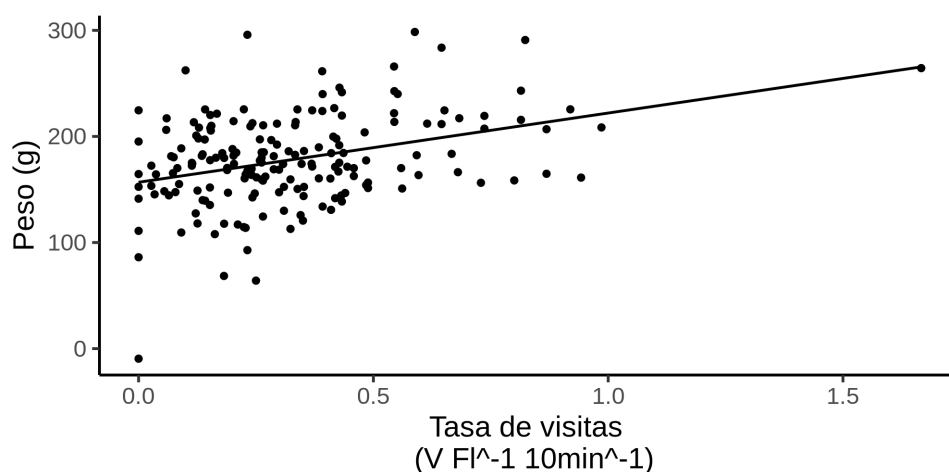


Figura 2.4 – Gráfico condicional del peso (g) de las manzanas en función de la tasa de visitas (visitas por flor $\cdot 10 \text{ min}^{-1}$). La remoción del punto extremo en la derecha no afectó los resultados del modelo ni la conclusión.

2.4. Discusión

El análisis de dos temporadas productivas en chacras de peras y manzanas muestra los claros beneficios de la polinización entomófila para el rendimiento en ambos cultivos. Llamativamente, la nutrición de las plantas no afectó de manera notoria ni la cantidad ni la calidad de los frutos. Además, al no haber hallado evidencia de interacción entre el estado nutricional y la polinización, estos resultados apoyan la hipótesis del efecto aditivo entre ambos factores. Klein et al. (2015) obtuvieron resultados similares en el cultivo de almendras en California, en donde la polinización se reveló como el principal factor limitando el crecimiento, incluso en árboles tratados bajo estrés hídrico y nutricional. Esto sugiere que los cultivos perennes son más resistentes a la variación en los niveles de nutrición, quizás debido a la acumulación de nutrientes, por lo que en años con menor absorción de nutrientes los árboles darían prioridad al desarrollo de la fruta sobre el rendimiento vegetativo. Esto es importante en vista de la estabilidad del rendimiento, que dependerá más del mantenimiento del proceso de polinización que del suministro de nutrientes.

Un componente importante del rendimiento es la cantidad de frutos. Fue encontrada una notoria reducción en el cuajado final de las flores aisladas de polinizadores en pera (48,9 % menos en comparación con el tratamiento abierto) y en manzana (97,0 % menos en comparación con el tratamiento abierto). Curiosamente, el cuajado final no se relacionó con la tasa de visitas, a diferencia de estudios previos en este sistema (Geslin et al. 2017). Para los manzanos, este resultado sugiere que las flores recibieron visitas dentro de un rango óptimo. De hecho, Vicens y Bosch (2000) y Garibaldi et al. (2020) estiman una tasa de visitas necesaria para una polinización adecuada en manzana (55 visitas por hora por cada 100 flores) cuyo valor fue superado por el primer decil de visitas a flores de manzano en este estudio (82 visitas por hora por cada 100 flores). Esto además implica ~6 visitas a cada flor en un día, considerando el tiempo receptivo de las flores de este cultivo (3 días, Losada y Herrero 2013), sería suficiente para una óptima polinización.

La calidad de las frutas puede ser tan importante como la cantidad. Las frutas pequeñas tienen un valor de mercado más bajo, por lo que los ingresos del productor están fuertemente vinculados a la calidad de la misma (Garraat et al. 2014). Se encontró tanto en la manzana como en la pera, que la polinización entomófila aumenta la calidad, lo que demuestra los beneficios de los polinizadores para los productores. El peso de la fruta mostró la respuesta más notoria a los polinizadores. En los perales, las flores expuestas a los polinizadores produjeron frutos en promedio un 5 % más pesados que las flores no expuestas, mientras que en los manzanos, el peso de la fruta aumentó un 24 % por unidad de tasa de visitas. Estos resultados revalorizan la polinización entomófila, ya que la calidad de la fruta no solo es un componente clave del rendimiento de los cultivos, sino también de las ganancias de los agricultores (Geslin et al. 2017).

Un punto importante a destacar es que el raleo químico es una práctica habitual en el cultivo de manzanas. Esta práctica tiene como objetivo homogeneizar la calidad de los frutos, eliminando aquellos de menor tamaño. Por esta razón, muchos administradores de chacras y agrónomos no conciben la polinización como un factor importante a considerar en el manejo agrícola. Aquí se

demuestra que el efecto positivo de los polinizadores sobre la calidad de la fruta persiste incluso después del raleo químico. Probablemente esto se deba a una mejora en la calidad del polen que llega a las flores y proporciona argumentos para valorar los polinizadores (Aizen y Harder 2007).

En este sistema, se hallaron fuertes diferencias entre cultivos en las visitas de insectos. Debido a que en la mayoría de las chacras las parcelas de manzana y pera se plantan muy cerca unas de otros, y las abejas provenientes de las colmenas manejadas representan casi todas las visitas a las flores, no se espera que el contexto del paisaje o la ubicación de las colmenas sea responsable de esta diferencia en el suministro de polinización (Free y Williams 1974). Además, aunque en esta región la pera comienza a florecer unos días antes, ambos cultivos se superponen en la mayor parte de su tiempo de floración (Díaz et al. 2013, Geslin et al. 2017). Por lo tanto, las diferencias fenológicas, que pueden reflejar diferentes condiciones climáticas en este clima frío, no parecen ser suficientes para explicar un orden de magnitud de diferencia en las visitas. El tipo, la cantidad y la calidad de las recompensas florales pueden explicar el mayor atractivo de las abejas por las flores de manzana que por las de pera. Un estudio anterior, en la misma región, mostró que el volumen de néctar producido por las flores de manzana es cuatro veces mayor y la concentración de azúcar del néctar es dos veces mayor que en las flores de pera (Díaz et al. 2013, material suplementario). Además, mostraron que las abejas recolectoras de néctar prefieren las flores de manzana a las de pera, mientras que aquellas que recolectan polen muestran la preferencia opuesta (Díaz et al. 2013). Por lo tanto, los resultados aquí presentados sugieren una mayor demanda de néctar que de polen de las colmenas de este sistema.

Aunque fue cubierto un amplio gradiente de la concentración de nitrógeno del peso seco de la hoja (2,14 % - 2,74 % para manzana, 2,02 % - 2,64 % para pera), en un espectro dentro del rango normal recomendado para estos cultivos (Dris et al. 1999, Dar et al. 2015), se encontró un efecto bajo de éste en el rendimiento de ambos cultivos. Una posible causa podría ser que el valor SPAD no esté relacionado con un nutriente clave, además del nitrógeno, que sea limitante para el

desarrollo de la fruta. Porro et al. (2001) encontraron una relación positiva entre el valor SPAD y la concentración de nitrógeno, magnesio y calcio en las hojas y una relación negativa para la concentración de potasio y boro, mientras que no se midió el fósforo (un macronutriente importante). Otra posibilidad es que los cultivos perennes sean resistentes al estrés. En la almendra, Esparza et al. (2001) encontraron un efecto negativo en el rendimiento luego de tres años de estrés hídrico, mientras que Klein et al. (2015) no encontraron ningún efecto del estrés nutricional o hídrico en el rendimiento en una temporada de cosecha. En definitiva, los resultados aquí presentados sugieren que el rendimiento en ambos cultivos está más influenciado por la polinización de insectos que por el nivel de nutrientes.

2.5. Conclusión

A partir de los estudios realizados puede verse que la polinización entomófila, muchas veces subestimada como un proceso crítico que subyace al rendimiento de los cultivos, puede ser tanto o incluso más importante, como es en este caso, que otros factores como la nutrición de las plantas. Aún más, este efecto es consistente en dos cultivos con diferentes recompensas florales para los polinizadores, grados de autocompatibilidad y dependencia de los polinizadores (Free 1993, Klein et al. 2007). El hecho de que la polinización tenga un efecto abrumador sobre la cantidad y la calidad del rendimiento destaca la importancia de las prácticas de manejo que promuevan a los polinizadores en las granjas.

2.6. Apéndice

Tabla A 2.1. - Coeficientes estimados ($\pm$ DE) de los modelos mínimos elegidos según inferencia multimodelo sobre el efecto de la exclusión de polinizadores, estado nutricional y temporada sobre el cuajado temprano y final de los manzanos y perales, así como también las variables de calidad (peso, diámetro, altura y BRIX) de los perales.

	MANZANA				PERA			
	Cuajado temprano	Cuajado final	Cuajado temprano	Cuajado final	Peso (g)	Diámetro (mm)	Altura (mm)	BRIX (%)
Ordenada	0.21 (0.02)	0.30 (0.03)	0.06 (0.02)	0.073 (0.004)	389 (47)	112 (10)	108 (11)	23 (2)
Exclusión	-0.21 (0.01)	-0.30 (0.03)		-0.036 (0.006)	-37 (10)	-6 (2)	-5 (2)	-0.5 (0.2)
SPAD		-0.0040 (0.0007)			-5 (1)	-1.0 (0.2)	-0.5 (0.3)	-0.27 (0.04)
Año2019		-0.070 (0.007)	0.20 (0.02)		-61 (7)	-9 (1)	-11 (2)	-1.2 (0.2)
Exclusión : SPAD		0.0039 (0.0008)						
Exclusión : Año2019		0.07 (0.01)			41 (13)	6 (3)	5 (3)	0.4 (0.3)
SPAD : Año2019								
Exclusión : SPAD : Año2019								

Tabla A2.2 – Importancia relativa de cada variable predictora de los modelos de exclusión. La importancia relativa se calcula a partir de la suma de los “pesos de Akaike” de todos los modelos que incluyen aquella variable predictora. En *itálica* se destacan aquellos valores de importancia relativa de las variables que fueron incluidas en el modelo mínimo.

	MANZANA				PERA			
	Cuajado temprano	Cuajado final	Cuajado temprano	Cuajado final	Peso (g)	Diámetro (mm)	Altura (mm)	BRIX (%)
Tratamiento	<i>1,00</i>	<i>1,00</i>	0.24	<i>1,00</i>	<i>1,00</i>	<i>0.98</i>	<i>0.80</i>	<i>0.88</i>
SPAD	0.45	<i>0.89</i>	0.06	<0.01	<i>1,00</i>	<i>1,00</i>	<i>0.83</i>	<i>1.00</i>
Temporada	<i>0.02</i>	<i>1.00</i>	<i>1.00</i>	0.41	<i>1,00</i>	<i>1,00</i>	<i>1.00</i>	1.00
Tratamiento : SPAD	0.45	<i>0.86</i>	<0.01	<0.01	0.39	0.35	0.28	0.39
Tratamiento : Temporada	<0.01	<i>1.00</i>	<0.01	<0.01	<i>0.98</i>	<i>0.84</i>	<i>0.52</i>	<i>0.49</i>
SPAD : Temporada	<0.01	0.01	0.02	<0.01	0.35	0.28	0.22	0.27
Tratamiento : SPAD : Temporada	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.04	0.02	0.01	0.02

Tabla A2.3 – Coeficientes de correlación de Spearman de las variables medidas para manzana y pera. Los valores estadísticamente significativos ($p < 0,05$) están destacados en *itálica*.

		Cuajado temprano	Cuajado final	Peso	Diámetro	Altura	BRIX	SPAD
MANZANA	Cuajado temprano							
	Cuajado final	<i>0.53</i>						
	Peso	-0.06	0.10					
	Diámetro	-0.04	0.09	<i>0.96</i>				
	Altura	-0.09	0.03	<i>0.95</i>	<i>0.89</i>			
	BRIX	-0.04	<i>0.15</i>	<i>0.28</i>	<i>0.28</i>	<i>0.19</i>		
	SPAD	<i>-0.30</i>	<i>-0.28</i>	0.05	0.05	0.10	<i>-0.29</i>	
	Tasa de visitas	-0.08	<i>-0.19</i>	0.10	0.11	0.08	<i>0.26</i>	0.09
PERA	Cuajado temprano							
	Cuajado final	<i>0.65</i>						
	Peso	<i>-0.26</i>	-0.03					
	Diámetro	<i>-0.21</i>	-0.01	<i>0.97</i>				
	Altura	<i>-0.30</i>	-0.14	<i>0.88</i>	<i>0.79</i>			
	BRIX	<i>-0.42</i>	<i>-0.16</i>	<i>0.55</i>	<i>0.52</i>	<i>0.48</i>		
	SPAD	<i>0.19</i>	0.10	<i>-0.27</i>	<i>-0.29</i>	<i>-0.15</i>	<i>-0.55</i>	
	Tasa de visitas	<i>0.22</i>	<i>0.26</i>	0.01	0.02	-0.04	-0.14	0.06

Tabla A2.4 – Coeficientes estimados ($\pm$ DE) de los modelos mínimos elegidos según inferencia multimodelo sobre el efecto de la tasa de visitas, estado nutricional y temporada sobre el cuajado temprano y final, así como también las variables de calidad (peso, diámetro, altura y BRIX) de los manzanos y perales.

	MANZANA						PERA					
	Cuajado temprano	Cuajado final	Peso (g)	Diámetro (mm)	Altura (mm)	log(BRIX (%))	Cuajado temprano	Cuajado final	Peso (g)	Diámetro (mm)	Altura (mm)	BRIX (%)
Ordenada	0.4 (0.1)	0.14 (0.01)	269 (41)	71 (2)	77 (7)	3.0 (0.1)	-0.4 (0.2)	0.4 (0.1)	355 (56)	108 (12)	85 (1)	23 (2)
Tasa de visitas			65 (16)	10 (3)	9 (2)							
SPAD	-0.005 (0.003)		-2.8 (0.9)		-0.3 (0.1)	-0.014 (0.002)	0.012 (0.004)	-0.007 (0.003)	-4 (1)	-0.9 (0.3)		-0.27 (0.04)
Temporada2019		-0.079 (0.009)		-2 (1)		-0.06 (0.02)	0.18 (0.02)	-0.4 (0.1)	-60 (7)	-9 (1)	-11 (1)	-1.2 (0.2)
Tasa de visitas : SPAD												
Tasa de visitas : Temporada												
SPAD : Temporada2019								0.010 (0.003)				
Tasa de visitas : SPAD : Temporada2019												

Tabla A2.5 – Importancia relativa de cada variable predictora de los modelos de tasa de visitas. La importancia relativa se calcula a partir de la suma de los “pesos de Akaike” de todos los modelos que incluyen aquella variable predictora. En *itálica* se destacan aquellos valores de importancia relativa de las variables que fueron incluidas en el modelo mínimo.

	MANZANA						PERA					
	Cuajado temprano	Cuajado final	Peso (g)	Diámetro (mm)	Altura (mm)	log(BRIX (%))	Cuajado temprano	Cuajado final	Peso (g)	Diámetro (mm)	Altura (mm)	BRIX (%)
Tasa de visitas	0.51	0.02	<i>1.00</i>	<i>1.00</i>	<i>1.00</i>	0.68	0.48	0.62	0.48	0.54	0.39	0.56
SPAD	<i>0.85</i>	0.34	<i>0.95</i>	0.51	<i>0.76</i>	<i>1.00</i>	<i>0.99</i>	<i>0.90</i>	<i>0.98</i>	<i>0.99</i>	0.52	<i>1.00</i>
Temporada	0.65	<i>1.00</i>	0.47	<i>0.63</i>	0.44	<i>1.00</i>	<i>1.00</i>	<i>0.98</i>	<i>1.00</i>	<i>1.00</i>	<i>1.00</i>	<i>1.00</i>
Tasa de visitas : 0.14 SPAD		<0.01	0.21	0.20	0.19	0.18	0.16	0.27	0.15	0.17	0.11	0.28
Tasa de visitas : 0.13 Temporada		<0.01	0.25	0.16	0.20	0.28	0.16	0.27	0.21	0.27	0.08	0.29
SPAD : 0.26 Temporada		<0.01	0.12	0.09	0.09	0.28	<i>0.90</i>	<i>0.86</i>	0.29	0.25	0.14	0.31
Tasa de visitas : 0.01 SPAD : Temporada		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.01	0.04	<0.01	<0.01	<0.01	0.06

Capítulo 3 – El papel de la polinización entomófila en la estabilidad del rendimiento de los cultivos

Adaptado de: Hünicken, P. L., Morales, C. L., Aizen, M. A., Anderson, G. K., García, N., y Garibaldi, L. A. (2021). Insect pollination enhances yield stability in two pollinator-dependent crops. *Agriculture, Ecosystems y Environment*, 320, 107573.

<https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107573>

3.1. Introducción

Garantizar un suministro de alimentos adecuado y estable y al mismo tiempo minimizar la degradación ambiental es un desafío importante que enfrenta la agricultura mundial en la actualidad. De hecho, la intensificación convencional de la agricultura ha logrado aumentar los rendimientos a corto plazo, pero esto se ha producido a costa de elevados subsidios externos y el deterioro de las funciones del ecosistema como el ciclado de nutrientes, el control biológico de plagas y la polinización (Krebs et al. 1999, Matson et al. 1997, Foley et al. 2005). De esta forma, la agricultura convencional compromete los rendimientos futuros disminuyendo su estabilidad espacial y temporal (Deguines et al. 2014). Por lo tanto, mejorar el conocimiento de la relación entre las funciones ecosistémicas y el rendimiento de los cultivos es clave para hacer frente a los desafíos de mantener la productividad y la estabilidad de los cultivos.

Como se planteó en el capítulo 1, no solo el 70% de las especies cultivadas dependen en cierta medida de la polinización entomófila (Klein et al. 2007), sino que además la agricultura mundial se ha vuelto cada vez más dependiente de los polinizadores (Aizen et al. 2008). Aunque se ha confirmado ampliamente la importancia de ensambles de polinizadores abundantes y diversos para el rendimiento de cultivos dependientes de la polinización entomófila (Garibaldi et al. 2013, Dainese et al. 2019), su papel en la estabilidad de rendimiento ha recibido menos atención (e.g. Kremen et al. 2004, Klein 2009, Geeraert et al. 2020). Dos estudios han informado patrones que apuntan a la polinización animal como factor impulsor de la estabilidad del rendimiento en cultivos dependientes de polinizadores. En primer lugar, Garibaldi et al. (2011a) encontraron, a escala global, que un menor rendimiento medio y una mayor variabilidad temporal del mismo se asociaron con un mayor grado de dependencia de la polinización. En segundo lugar, Deguines et al. (2014) informaron patrones a escala de país de menor rendimiento medio y mayor variabilidad espacial del mismo en cultivos altamente dependientes de polinizadores a lo largo de un gradiente de intensificación agrícola creciente. Conocer si esta relación positiva entre polinización y estabilidad

de cultivos dependientes de la polinización, demostrada a nivel global y nacional, se revela a nivel local e interanual es de suma importancia, dado que son las escalas espacio-temporales donde pueden intervenir los productores.

Esta investigación debe tener en cuenta no solo cómo los rendimientos de los cultivos y su variabilidad espacial y temporal responden a la prestación del servicio de polinización (es decir, sus valores medios), sino también cómo estas respuestas se ven influenciadas por la variabilidad en el servicio de polinización en sí. Por ejemplo, Geeraert et al. (2020) demostraron que la diversidad de abejas no-*Apis* aumentó la estabilidad temporal en los rendimientos de café, mientras que Klein (2009) asoció una menor variabilidad en la riqueza de abejas cerca de los bordes del bosque con mayores rendimientos de café y menor variabilidad espacial del rendimiento. Estos resultados destacan la influencia de la diversidad de polinizadores y la estabilidad espacio-temporal de estos sobre el rendimiento de los cultivos, ya sea en sus valores absolutos como en los de su estabilidad temporal y espacial.

Sin embargo, dado que en el dominio actual de la agricultura convencional una gran proporción de cultivos comerciales se basa casi exclusivamente en pocas o incluso en una sola especie de polinizadores (principalmente *Apis mellifera*, Klein et al. 2007, Foto 3.1), se necesita un marco conceptual más amplio dentro del cual estudiar la variación en el rendimiento de los cultivos asociada con la variación en el aspecto cuantitativo del proceso de polinización (e.g. abundancia de polinizadores o frecuencia de visitas). Dicho marco podría aplicarse a diferentes sistemas de cultivos, independientemente de la diversidad o composición de especies. Es por eso que en este capítulo se desarrolla un marco conceptual que permite evaluar simultáneamente el efecto de la variabilidad espacial y temporal en las visitas de los polinizadores sobre la variabilidad espacial y temporal en el cuajado de frutos en la pera y la manzana, dos cultivos con gran dependencia de polinizadores (Klein et al. 2007).



Foto 3.1 – Colmenas de *Apis mellifera* dispuestas para la polinización de cultivos de frutales en una de las chacras del sistema de estudio de los capítulos 2 y 3. Es pertinente recalcar el mal manejo realizado aquí: las colmenas a la altura del piso y en una zona propensa a inundarse por el riego de los cultivos.

El rendimiento generalmente aumenta de forma asintótica con la adición de recursos como nutrientes, agua o polen (Figura 3.1, Rubio et al. 2003). La forma de esta respuesta tiene varias consecuencias. Primero, dentro de un cierto rango, se espera que el aumento en la oferta media de recursos mejore el rendimiento medio (Figura 3.2-A1). En segundo lugar, se espera que el aumento en el suministro medio de recursos reduzca la variabilidad del rendimiento de los cultivos (Figura 3.2-B1). En tercer lugar, para una determinada oferta media de recursos, el rendimiento medio es menor cuando la variabilidad de la oferta de recursos es mayor (coeficiente de variación más alto, de aquí en adelante CV), una consecuencia de lo que se conoce como desigualdad de Jensen (Figura 3.2-C1, Ruel y Ayres 1999). Finalmente, una consecuencia más directa y menos evaluada empíricamente es que se espera que la variabilidad del rendimiento aumente con una alta

variabilidad de la oferta de recursos (Figura 3.2-D1). Aunque mejores rendimientos a altos niveles de polinización predichos por la Figura 3.2-A1 han sido ampliamente confirmados (Aizen et al. 2009, Garibaldi et al. 2013), pocos estudios han evaluado las otras tres relaciones (Figs. 3.2-B1, C1, D1). Dado que la polinización no se maneja con tanta frecuencia como la fertilización o el riego, la variación en rendimiento de cultivos dependientes de polinizadores podría estar fuertemente relacionada con la variación en el suministro de polen (Garibaldi et al. 2011a, 2011b).

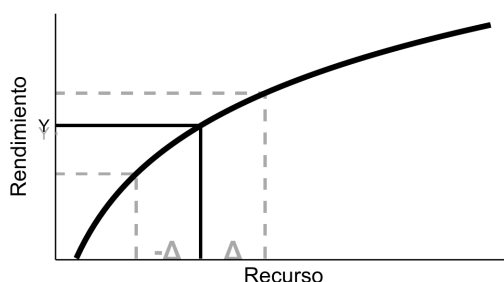


Figura 3.1 – Relación general del rendimiento (e.g. frutos · flor⁻¹) en función de la disponibilidad de un recurso.

El objetivo de este capítulo es explorar la influencia de los polinizadores y la variabilidad espacial y temporal en la prestación del servicio de polinización sobre el rendimiento medio de los cultivos y su variabilidad espacial y temporal. Con este fin, se construyó una serie de tiempo de 4 años de tasas de visitas de polinizadores y cuajado de frutos en cultivos de pera y manzana. Se evaluó el efecto de la exclusión de polinizadores, los niveles medios de la tasa de visitas, y la variabilidad espacial y temporal de la tasa de visitas, sobre los niveles medios del cuajado de frutos y su variabilidad espacial y temporal. Se espera que el cuajado medio de frutos aumente con el acceso de los polinizadores a las flores y la tasa media de visitas (Fig. 3.2-A1), y disminuya con el CV espacial y temporal de la tasa de visitas (Fig 3.2-C1). Además, se espera que el CV del cuajado de frutos disminuya con el acceso de los polinizadores a las flores y la tasa media de visitas (Fig. 3.2-B1), y aumente con el CV espacial y temporal de la tasa de visitas (Fig. 3.2-D1).

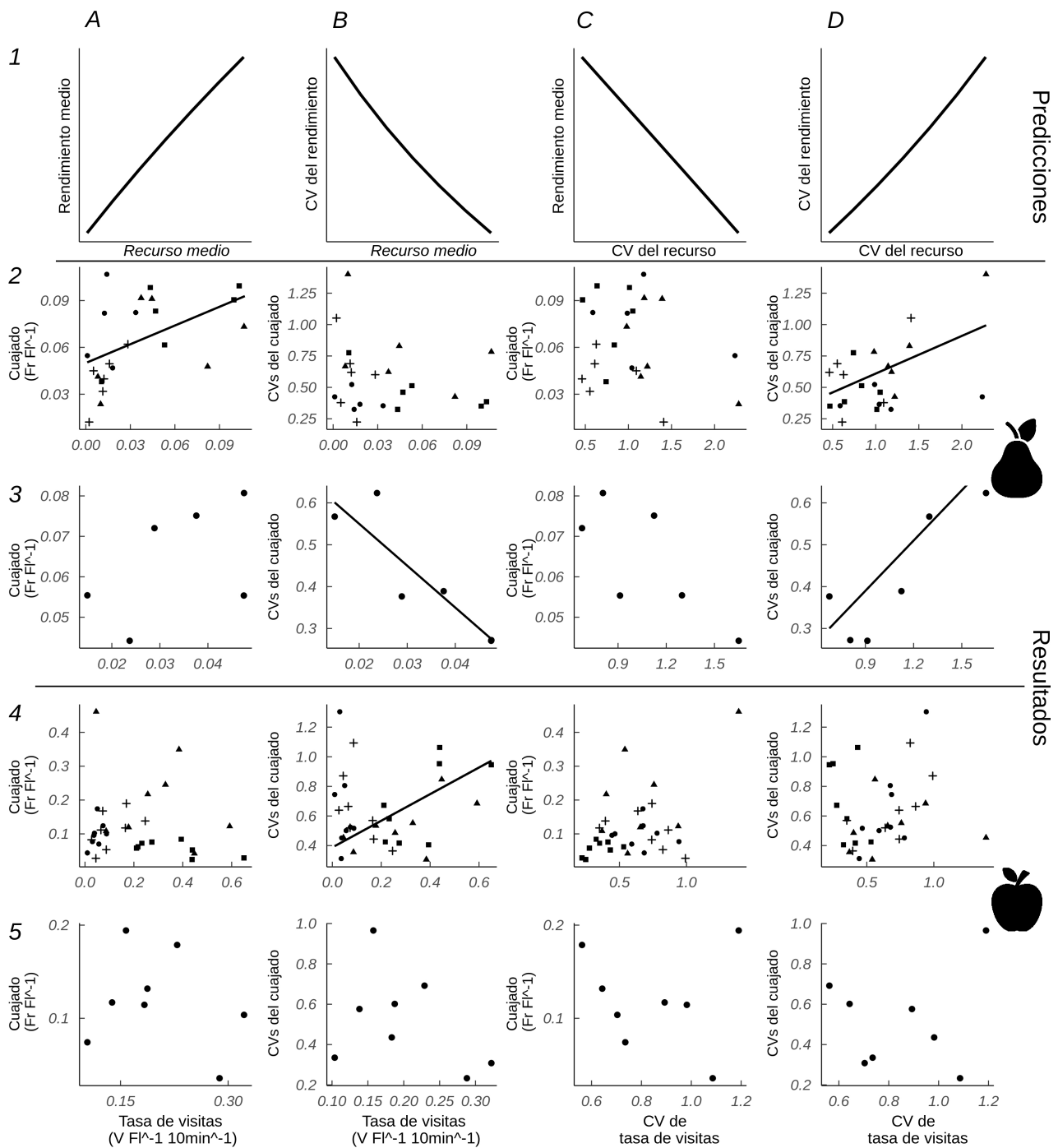


Figura 3.2 - Predicciones y resultados del efecto de la tasa de visitas (media y CV) sobre el cajado (media y CV) de peras y manzanas. La fila 1 muestra las relaciones predichas entre (A) Rendimiento medio y recurso medio. (B) Coeficiente de variación del rendimiento con respecto al recurso medio. (C) Rendimiento medio al coeficiente de variación del recurso. (D) Coeficiente de variación del rendimiento al coeficiente de variación del recurso. Tener en cuenta que las relaciones predichas no son lineales. Filas 2-3: pera; 4-5: manzana. Las filas 2 y 4 reflejan los resultados de los

"modelos de variación espacial", cada punto es el valor de una chacra y cada símbolo se refiere a una temporada (cruz: 2016, círculo: 2017, triángulo: 2018, cuadrado: 2019). Las filas 3 y 5 reflejan los resultados de los "modelos de variación temporal" y cada punto es el valor de un campo. Se agregaron líneas de regresión cuando el efecto de la tasa de visitas (media o CV) es estadísticamente significativo ($p < 0.05$). Tasa de visitas = visitas $\cdot$ flor⁻¹ $\cdot$ 10 min⁻¹, Cuajado = frutos $\cdot$ flor⁻¹. Tener en cuenta la diferencia de escalas de los ejes x e y entre filas.

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Sistema de estudio

Este estudio se llevó a cabo durante las temporadas australes de cultivo 2015-2016, 2016-2017, 2017-2018 y 2018-2019 (en adelante 2016, 2017, 2018 y 2019, respectivamente), desde la floración en septiembre hasta la cosecha en marzo. El área de estudio fue descrita en la sección 2.2.1. (capítulo 2). Para esta investigación, se trabajó en seis chacras de peras y ocho chacras de manzanas, en diez árboles por chacra en 2016, 2018 y 2019 y cinco árboles por chacra en 2017 (Figura 2.1). Las características florales y reproductivas de estas especies fueron detalladas en el capítulo 1.

3.2.2. Tratamiento de polinización

Para evaluar el efecto de la polinización entomófila, en cada árbol se excluyeron varias flores de pera y manzana de las visitas (media de pera $\pm$ DE: $22,6 \pm 0,5$; manzana: $18,1 \pm 0,6$) (tratamiento de exclusión) y se marcaron varias flores expuestas (media de pera $\pm$ DE: 65 ± 2 ; manzana: $46,6 \pm 0,9$) (tratamiento abierto). Las inflorescencias muestreadas se ubicaron al azar en la sección media de cada árbol. La exclusión se realizó cubriendo 2 o 3 inflorescencias con bolsas de tul (tamaño de malla 2 mm). En total, fueron seguidas 8.054, 4.631, 4.522 y 4.829 flores de pera y 4.793, 2.909, 4.578 y 5.830 flores de manzana durante las temporadas 2016, 2017, 2018 y 2019, respectivamente.

Cuando las frutas maduraron en febrero, se contó el número de frutos que se había desarrollado a partir de las flores asignadas a los tratamientos abiertos y de exclusión; esto permite estimar el cuajado de frutos, definido como la relación entre frutos desarrollados y flores marcadas. Las colmenas estaban colocadas en el camino que separa los perales y los manzanos, por lo que la distancia a las colmenas fue similar para ambos tipos de árboles.

3.2.3. Tasa de visitas

Durante cada temporada de floración, se realizaron censos de visitas florales de 2 a 6 veces en todos los árboles focales, entre las 9:00 am y las 6:00 pm, cuando la temperatura excedía los 15°C. Se utilizaron dos métodos para evaluar la tasa de visitas. En 2016 y 2017 se observaron solo las flores etiquetadas para el tratamiento "abierto" y registraron el número de visitas realizadas por cada insecto durante 10 minutos. Debido a la baja sensibilidad de este método en la detección de visitas, en 2018 y 2019 se realizaron mediciones en un mayor número de inflorescencias seleccionadas al azar, se contó el número de flores y se registró el número de visitas realizadas por cada insecto durante 10 minutos. Se clasificó a los visitantes en los siguientes grupos: *A. mellifera*, abejorros (*Bombus* sp.), sírfidos (Syrphidae) y otras especies. Durante las dos primeras temporadas se observó una media $\pm$ DE de $16,7 \pm 0,3$ y $9,6 \pm 0,2$ flores por árbol en cada censo de pera y manzana, respectivamente. Durante las dos últimas temporadas se observó una media $\pm$ DE de $34,1 \pm 0,8$ y $43,2 \pm 0,8$ flores por árbol en cada censo de pera y manzana, respectivamente.

3.2.4. Variabilidad espacial y temporal

Para ambas variables medidas (cuajado de frutos y tasa de visitas), se calculó el valor medio de los árboles para cada chacra y temporada. El promedio de estos valores representa el cuajado de frutos medio y la tasa de visitas media de cada chacra. Además, se calcularon los respectivos CV de cada chacra dividiendo el desvío estándar por el valor medio. Se llamó a esta nueva variable CV espacial,

ya que refleja la variación entre árboles dentro de una chacra. Luego se usaron los valores medios de cada chacra en cada año para calcular el valor medio por chacra durante las cuatro temporadas y su respectivo CV. A este último se lo llamó CV temporal, ya que refleja la variación entre las estaciones dentro de una chacra. Las escalas seleccionadas (es decir, para la variación espacial y temporal dentro de una chacra) son relevantes desde una perspectiva agronómica, ya que los productores pueden modificar las posibles fuentes de estas variaciones a través de cambios en sus prácticas de manejo.

3.2.5. *Análisis estadístico*

Para analizar el efecto de la polinización y su variabilidad sobre los niveles medios y la variabilidad del rendimiento se estimaron modelos lineales de efectos mixtos (MLM) y modelos lineales (ML) con el paquete 'nlme' y el paquete 'base' del programa R, respectivamente (Pinheiro et al. 2016, R Core Team 2018). Se incluyó el factor "temporada" como una variable compuesta para controlar los efectos climáticos. Las variables climáticas para los años estudiados se describen en la Tabla A3.1 (Apéndice).

Para analizar los efectos de la polinización en la producción media de frutos y su variabilidad espacial, se realizaron dos conjuntos de modelos (Tablas 3.1 y A.3.2). En el primero, se puso a prueba el efecto del tratamiento de exclusión, la temporada y la interacción entre estas variables, sobre el cuajado medio de frutos y su CV espacial. En el segundo conjunto de modelos, utilizando solo los datos de las flores expuestas, se probó el efecto de la tasa media de visitas, la temporada y la interacción entre estas variables, en el cuajado medio de frutos y su CV espacial. También fue evaluado el efecto del CV de la tasa de visitas, la temporada y la interacción entre estas variables sobre el cuajado medio de frutos y su CV espacial. La chacra se modeló como factor aleatorio en todos los modelos.

Con respecto a los efectos de la polinización sobre los niveles y la variabilidad temporal del cuajado de frutos, también se realizaron dos conjuntos de modelos (Tablas 3.2 y A3.3). En el primero, se probó el efecto del tratamiento de exclusión sobre el cuajado de frutos (medio y CV), y la identidad de la chacra se modeló como un factor aleatorio. En el segundo conjunto de modelos, utilizando solo los datos de las flores expuestas, se evaluó el efecto de la tasa de visitas (media y CV) en el cuajado de frutos (medio y CV).

Se verificaron visualmente los supuestos de normalidad, independencia y homocedasticidad de todos los modelos (gráfico QQ, predichos vs. residuos e histograma de residuos). En algunos modelos para manzana, el cuajado de frutos fue transformado logarítmicamente para lograr la normalidad. La significancia estadística ($p < 0,05$) de las variables fue evaluada usando la función *Anova* del paquete 'car' (Fox y Weisberg 2011). Cuando la interacción no fue significativa, se eliminó del modelo final para hacer estimaciones más precisas de los coeficientes.

3.3. Resultados

3.3.1. Tendencias en la tasa de visitas

El número total de visitas observadas difirió entre las dos primeras y las dos últimas temporadas, probablemente debido a las diferentes metodologías de muestreo de visitas. En las temporadas de floración 2016 y 2017, se observaron un total de 548 visitas a 45.810 flores durante un total de 2.180 horas de monitoreo de flores de pera y manzano, mientras que en las temporadas 2018 y 2019 se observaron un total de 10.371 visitas a 41.423 flores sobre un total de 629 horas. *Apis mellifera* fue responsable de casi la totalidad (99,7 %) de las visitas a flores de ambos cultivos. La tasa de visitas (visitas por flor $\cdot 10 \text{ min}^{-1}$) fue casi un orden de magnitud más alta en las flores de manzana que en las de pera -para las temporadas 2016 y 2017 (media $\pm$ DE de manzana: $0,092 \pm 0,006$, de pera: $0,013 \pm 0,001$) y temporadas 2018 y 2019 (media $\pm$ DE de manzana: $0,36 \pm 0,02$, de pera: $0,067 \pm 0,006$)-.

3.3.2. Efectos de la exclusión de los polinizadores

En ambos cultivos la exclusión de polinizadores tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre el cuajado medio de frutos (Tablas 3.1 y 3.2, Figura 3.3) y su CV espacial y temporal (Tablas 3.1 y 3.2, Figura 3.4). En las peras, fue estimada una disminución del 50 % en la producción media de frutos entre las flores excluidas por los polinizadores en los modelos espacial y temporal (Tablas A3.2 y A3.3). En manzanas el tratamiento de exclusión interactuó con la temporada (modelos espaciales), por lo que hubo dos años con reducciones de casi el 100 % debido a la exclusión (2016 y 2018) y uno con una reducción del 30 % (2019). En general, se estima una disminución en la producción media de manzanas del 71 % en las flores excluidas (Tabla A3.2). En los modelos temporales, se estima una disminución del 92 % de frutos de manzana producto de la exclusión (Tabla A3.3).

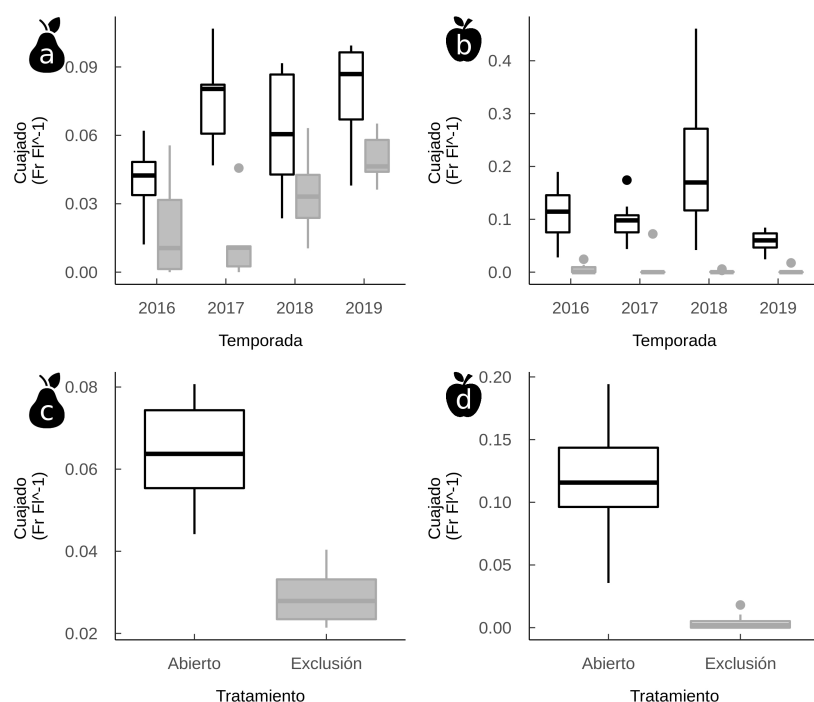


Figura 3.3 - Efecto de la exclusión de los polinizadores sobre el cuajado medio de frutos de peras y manzanas. Izquierda: pera, derecha: manzana. (a) y (b) ilustran los datos utilizados para los

"modelos de variación espacial"; (c) y (d) muestran los datos utilizados para los "modelos de variación temporal". Cajas blancas: tratamiento abierto, cajas grises: tratamiento de exclusión. Los recuadros muestran el rango inter-cuartílico (RIQ), las líneas horizontales representan la mediana y los bigotes muestran el rango de $1,5 \cdot \text{RIQ}$. Cuajado medio de frutos = $\text{fruto} \cdot \text{flor}^{-1}$. Tener en cuenta la diferencia de escalas del eje "y" entre cultivos.

El CV espacial del cuajado de frutos aumentó fuertemente en ambos cultivos producto de la exclusión de polinizadores, aunque esta variable interactuó con la temporada (Figura 3.4 a, b). En peras fue estimado un aumento de entre 155 % y 496 % en el CV del cuajado de frutos debido a la exclusión de polinizadores. En manzanas, el aumento estimado en el CV del cuajado de frutos por exclusión fue de 248 y 495 %, dependiendo de la temporada (Tabla A3.2). En general, el aumento del CV espacial del cuajado de frutos para las flores excluidas fue del 296 % en las peras y del 385 % en las manzanas. El CV temporal del cuajado de frutos aumentó con la exclusión en 197 % para las peras y 329 % para las manzanas (Fig. 3.4-c, d, Tabla A3.3).

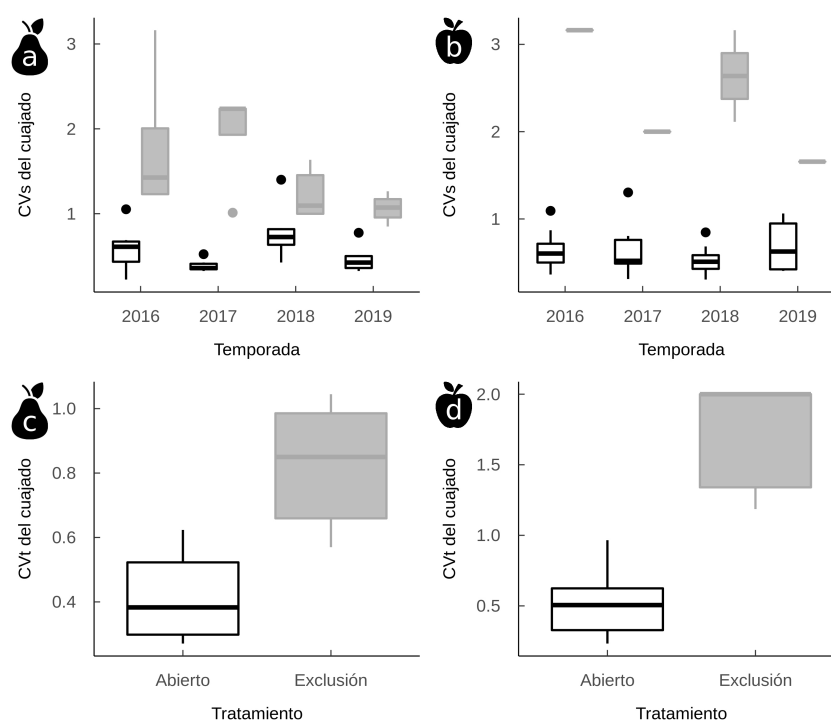


Figura 3.4 - Efecto de la exclusión de polinizadores sobre los coeficientes de variación (CV) espaciales y temporales del cuajado de frutos en peras y manzanas. (a) y (b) ilustran los resultados de los "modelos de variación espacial"; (c) y (d) muestran los resultados de los "modelos de variación temporal". Cajas blancas: tratamiento abierto, cajas grises: tratamiento de exclusión. Los recuadros muestran el rango inter-cuartílico (RIQ), las líneas horizontales representan la mediana y los bigotes muestran el rango de $1,5 \cdot \text{RIQ}$. Cuajado de frutos = $\text{fruto} \cdot \text{flor}^{-1}$, CV = desviación estándar sobre la media. Tener en cuenta la diferencia de escalas del eje y entre cultivos entre los paneles (c) y (d).

3.3.3. Efectos de la tasa media de visitas

En los modelos espaciales, los efectos de la tasa media de visitas sobre el cuajado de frutos (CV medio y espacial) fueron diferentes en peras y manzanas. En las peras se encontró un aumento estadísticamente significativo en el cuajado medio de frutos de 0,4 por unidad de tasa de visitas (i.e. 1 visita por flor en 10 minutos) (Fig. 3.2-A2, Tabla A3.2), mientras que en las manzanas la tasa media de visitas tuvo un efecto significativo en el CV espacial del cuajado de frutos (Tabla 3.1,

Figura 3.2-B4). Este efecto fue contrario a lo esperado, es decir, el CV espacial del cuajado de frutos aumentó en 0,9 unidades por unidad de tasa de visitas (Tabla A3.2). La interacción entre la tasa media de visitas y la temporada no fue significativa para todos los modelos (Tabla 3.1).

Sorprendentemente, el análisis de los modelos temporales no mostró ningún efecto significativo de la tasa de visitas sobre el cuajado medio de frutos en ninguno de los cultivos (Fig. 3.2-A3 y A5) o sobre el CV temporal del cuajado de frutos de manzana (Fig. 3.2-B5). Sin embargo, sí se halló un efecto estadísticamente significativo de la tasa media de visitas en el CV temporal del cuajado de frutos en las peras (Fig. 3.2-B3, Tabla 3.2), ya que disminuyó en 0,36 unidades por unidad de aumento en la tasa de visitas (Tabla A3.3).

Tabla 3.1 - Valores de Chisq de cada variable predictora de los modelos de "variación espacial".

Los valores de Chisq y de p se calcularon con la función 'Anova' del paquete car. Los valores de Chisq cuyos valores de p son inferiores a 0,05 se muestran en negrita; los valores Chisq cuyos valores p son inferiores a 0,1 están en cursiva. En el modelo de tratamiento de exclusión de manzanas, el cuajado se transformó logarítmicamente para lograr la normalidad. ∴ p <0,1; *: p <0,05; **: p <0,01; ***: p <0,001.

		Pera		Manzana	
Predictor		Cuajado de frutos	CV espacial del cuajado de frutos	Cuajado de frutos	CV espacial del cuajado de frutos
Modelos de exclusión	Exclusión	23.3 ***	59.0 ***	106 ***	301.3 ***
	Temporada	12.9 **	7.0 ·	15.2 **	6.1
	Exclusión : Temporada	5.6	14.5 **	28.8 ***	27.0 ***
Modelos de tasa de visitas	Tasa de visitas	5.0 *	3.6 ·	1.5	7.2 **
	Temporada	7.6 ·	10.9 *	21.8 ***	8.4 *
	Tasa de visitas : Temporada	0.5	0.3	2.7	4.2
Modelos de CV espacial de tasa de visitas	CV espacial de tasa de visitas	2.5	6.5 *	3.8 ·	3.4 ·
	Temporada	13.4 **	10.3 *	15.6 **	4.8
	CV espacial de tasa de visitas : Temporada	1.3	7.1 ·	6.4 ·	10.8 *

Tabla 3.2 - Chisq (modelos de exclusión) y valores F (tasa de visitas (media y CV) de cada variable predictora de los modelos de "variación espacial". Los valores de Chisq, F y p se calculan con la función 'Anova' del paquete car. Los valores de Chisq o F cuyos valores de p son inferiores a 0,05 se muestran en negrita; los valores chisq o F- cuyos valores p son inferiores a 0,1 están en cursiva. En el modelo de tratamiento de exclusión de manzanas, el cuajado de frutos se transformó logarítmicamente para lograr la normalidad. ∴ P <0,1; *: p <0,05; **: p <0,01; ***: p <0,001.

		Pera		Manzana	
Predictor		Cuajado de frutos	CV temporal del cuajado de frutos	Cuajado de frutos	CV temporal del cuajado de frutos
Modelos de exclusión	Exclusión	28.4 ***	17.4 ***	52.4 ***	44.6 ***
Modelos de tasa de visitas	Tasa de visitas	1.9	17.2 *	0.4	1.2
Modelos de CV temporal de tasa de visitas	CV temporal de tasa de visitas	5.1 ∴	12.0 *	0.1	0.2

3.3.4. Efectos del CV de la tasa de visitas

En los modelos espaciales no se encontró asociación estadísticamente significativa entre el CV espacial de la tasa de visitas y el cuajado medio de frutos de cualquiera de los cultivos (Tabla 3.1 y Fig. 3.2-C2 y C4). Con respecto al efecto del CV espacial de la tasa de visitas sobre el CV del cuajado de frutos, en las peras se halló un efecto estadísticamente significativo y directo correspondiente a un aumento de 0,3 unidades por unidad de tasa de visitas CV (Tabla A3.2, Fig. 3.2-D2) mientras que en las manzanas no hubo un efecto significativo (Tabla 3.1, Fig. 3.2-D4). Finalmente, en los modelos temporales el efecto del CV temporal de la tasa de visitas en el cuajado de frutos (medio o su CV temporal) fue estadísticamente significativo solo para el CV del cuajado de frutos en las peras, mostrando un aumento de 0,4 unidades por unidad de CV de tasa de visitas (Tablas 3.2, A3.3 y Fig 3.2-C3, D3, C5 y D5).

3.4. Discusión

Los resultados aquí presentados muestran la importante contribución de la polinización entomófila al rendimiento medio y su estabilidad espacial y temporal en pera y manzana, dos cultivos altamente dependientes de polinizadores. A pesar del riego y la fertilización manejados y homogéneos, se encontró una gran variabilidad espacial y temporal en el rendimiento de ambos cultivos. La ausencia de polinizadores disminuyó el cuajado medio de frutos (Figura 3.3) y aumentó su variabilidad espacial y temporal (Figura 3.4). En cuanto al papel de las visitas de polinizadores (abejas melíferas), el efecto de la tasa media de visitas o sus CV sobre el cuajado (medio y CV) difirió entre los cultivos estudiados (Figura 3.2).

El tratamiento de exclusión simula un escenario "sin polinizadores". En el caso de las peras, se observa que redujo el cuajado de frutos en un 50 % tanto en el modelo espacial como en el temporal. Además, éste se volvió más variable, dado que el CV espacial y temporal del cuajado de frutos aumentó con la exclusión de polinizadores, en un 296 y 197 % respectivamente (Tabla A3.2 y Tabla A3.3). En las manzanas, la exclusión de los polinizadores condujo no solo a una mayor reducción en el cuajado de frutos que en las peras (71 % en modelos espaciales y 92 % en modelos temporales) sino también a un aumento más marcado en el CV espacial (385 %) y temporal (329 %) (Tablas A3.2 y A3.3). Esta notable reducción en la producción de frutos en ambos cultivos es consistente con su categorización como cultivos cuya dependencia de polinizadores es “grande” (Klein et al. 2007). Sin embargo, esta categoría abarca una amplia gama de dependencias de polinizadores (i.e. reducciones en el rendimiento de entre el 40 % y el 90 %). Según los resultados aquí presentados, la producción de frutos en las manzanas sería más dependiente de los polinizadores que en las peras, casi llegando a la categoría donde la contribución de los polinizadores es "esencial" (i.e. una reducción igual o superior al 90% en ausencia de polinizadores).

Además, se demostró que los polinizadores no solo contribuyen a un aumento en la producción de frutos en ambos cultivos (Fig. 3.3), sino también, y aún más fuertemente, contribuyen a una reducción de la variabilidad espacial y temporal del rendimiento (Fig. 3.4). La diferencia en la magnitud de este efecto entre cultivos puede sugerir que cuanto mayor es la contribución de los polinizadores a la producción de frutos en un cultivo, mayor es su contribución a la estabilidad del rendimiento en el espacio y el tiempo. Si bien la correlación entre la dependencia de los polinizadores de los cultivos y la variabilidad temporal del rendimiento se ha documentado a escala mundial (Garibaldi et al. 2011a), la relación con la variabilidad espacial que se muestra aquí merece más pruebas en diferentes escalas espaciales.

Aunque el escenario "sin polinizadores" es hipotético, muchos sistemas agrícolas en todo el mundo se manejan bajo intensificación convencional, confiando exclusivamente en la contratación de colmenas para abastecer la demanda de polinización (Klein et al. 2007, Ellis 2012, Klein et al. 2015). Este es el caso del sistema de estudio, donde ~ 99 % de los insectos que visitaron flores fueron abejas manejadas (Geslin et al. 2017, Hünicken et al. 2020, Perez-Mendez et al. 2020). Estos resultados deben servir como una advertencia de que las prácticas agrícolas deben cambiarse para asegurar la presencia de poblaciones viables de polinizadores silvestres, no solo para aumentar el rendimiento de los cultivos sino también para garantizar la estabilidad espacial y temporal de estos rendimientos (ver una discusión detallada más adelante).

Cuando fueron consideradas la tasa media de visitas o su CV como predictoras del cuajado medio de frutos o su variabilidad, se encontraron efectos diferentes entre los cultivos de frutales. En el caso de las peras, el efecto de la tasa de visitas sobre el cuajado medio de frutos fue estadísticamente significativo y consistente con las expectativas planteadas anteriormente (es decir, el índice de visitas medio aumentó el cuajado medio de frutos (Fig. 3.2-A2, Tabla 3.1 y Tabla A3.2) y el aumento en el CV espacial de la tasa de visitas aumentó el CV espacial del cuajado (Fig. 3.2-D2). Un resultado similar fue reportado por Klein et al. (2009) para el café polinizado por abejas: la

variación espacial en la riqueza de especies de abejas a escala de chacra disminuyó el cuajado y aumentó su variación espacial. Además, se encontró que un aumento en la tasa de visitas disminuye el CV temporal del cuajado de frutos y que al aumentar la variabilidad de la tasa de visitas aumenta el CV temporal (Fig. 3.2-B3 y D3). En términos generales, se evidencia a la polinización y su variabilidad espacial y temporal como uno de los principales factores que moderan el rendimiento y la estabilidad en el cultivo de pera.

En el caso de las manzanas, la única correlación estadísticamente significativa entre la variación espacial en el cuajado de frutos y la tasa de visitas fue contraria a la predicción hecha (es decir, una mayor tasa de visitas se relacionó con un mayor CV espacial en el cuajado de frutos, Fig. 3.2-B4). Al igual que como se mostró en el capítulo 2 de esta tesis, la tasa de visitas estimada necesaria para una polinización adecuada ($0,092 \text{ visitas por flor} \cdot 10 \text{ min}^{-1}$, Vicens y Bosch 2000, Garibaldi et al. 2020) fue superada holgadamente (el primer decil de visitas a flores de manzano en este estudio es de $0,14 \text{ visitas por flor} \cdot 10 \text{ min}^{-1}$). Un estudio en frambuesa encontró que, si bien la carga de polen en los estigmas de las flores aumentaba con las visitas, el cuajado de frutos no lo hacía, porque a partir de cierto nivel de visitas los estigmas de las flores empezaban a dañarse (Sáez et al. 2014). Dado que más del 90% de las flores de manzana recibieron más visitas que las necesarias para una polinización adecuada, este exceso en la polinización puede ser el causante de este efecto negativo por el daño que podrían estar recibiendo las flores.

Los resultados presentados sugieren que los productores deberían adoptar prácticas que promuevan la estabilidad en las tasas de visitas para mejorar el rendimiento medio del cultivo y su estabilidad. En el caso de las peras, por ejemplo, colocar pequeños grupos de colmenas en una granja podría mejorar la estabilidad espacial de las visitas, ya que cada árbol estaría cerca de una colmena (Cunningham et al. 2015). Un estudio sobre el haba (*Vicia faba*) encontró que el rendimiento era mayor y su variación espacial menor en plantas cercanas a las colmenas (Cunningham y Le Feuvre 2013). Para las manzanas, si bien se ha probado el efecto positivo de la

polinización entomófila en general y de *Apis mellifera* en particular (Geslin et al. 2017, Hünicken et al. 2020), debería monitorearse la cantidad de visitas que reciben, dado que como se ha visto, demasiadas visitas podrían estar perjudicando la estabilidad del rendimiento. Sin embargo, el manejo de las abejas por sí solo no es suficiente para una polinización óptima (Garibaldi et al. 2013, 2020).

Si bien este sistema de estudio se basa exclusivamente en las visitas de las abejas melíferas, un ensamble diverso de polinizadores puede mejorar el rendimiento medio y la estabilidad espacial o temporal de los cultivos dependientes de polinizadores a través de varios mecanismos. Por ejemplo, la estabilidad espacial a escala de chacra puede verse mejorada por diferentes especies de polinizadores, ya que es probable que tengan diferentes rangos de vuelo y se complementen al visitar diferentes sectores de la chacra (Woodcock et al. 2013, Garrat et al. 2018). También es posible que una especie mejore su eficacia de polinización en presencia de otra especie, a través de cambios de comportamiento (Winfrey y Kremen 2009, Brittain et al. 2013, Woodcock et al. 2013). La estabilidad temporal entre temporadas productivas podría favorecerse a partir de fluctuaciones naturales desacopladas en la abundancia de las poblaciones de diferentes especies (por ejemplo, especies que responden de manera diferente a los años lluviosos, donde el descenso en la abundancia de una especie es compensado por el aumento de la abundancia de la otra) (Hoehn et al. 2008; Blüthgen y Klein 2011). Un estudio anterior en este sistema informó que el rendimiento de la manzana aumentó con la presencia de un abejorro nativo junto con las abejas melíferas en comparación con las abejas melíferas solas (Pérez-Méndez et al. 2020). Además, Kremen et al. (2004) encontraron que tanto la cantidad como la estabilidad de la polinización de la sandía por las abejas nativas aumentaron con la proporción de hábitat natural en el paisaje, y recomendaron la conservación de estos hábitats para reducir la dependencia de los agricultores de las abejas manejadas. Esto reduciría tanto los costos de producción como los riesgos para los agricultores, al tiempo que aumentaría no solo la seguridad alimentaria de la sociedad (Garibaldi et al. 2011b), sino

también la biodiversidad en los paisajes agrícolas. En general, la alta variabilidad en el rendimiento se puede reducir aumentando la diversidad de polinizadores, lo que resalta la importancia de la polinización por insectos, como lo demuestran estudios previos (Klein 2009, Geeraert et al. 2020). Por lo tanto, los productores deberían ir más allá de una especie de polinizador manejado (ver capítulo 4) e incorporar cambios en el uso de la tierra y sus prácticas agrícolas para enriquecer el ensamble de polinizadores.

Por último, es importante considerar las consecuencias sociales y económicas de la variabilidad del rendimiento, dado que la estabilidad alimentaria es una dimensión de la seguridad alimentaria (McGuire et al. 2015, Pistrup-Andersen 2009). Por el lado de los productores, las cosechas inestables implican ingresos monetarios impredecibles y conducen a una variabilidad en la oferta del mercado. Por el lado de los consumidores, esta inestabilidad tiene dos consecuencias importantes: fluctuaciones en la oferta de alimentos y volatilidad de los precios (Wheeler y von Braun 2013, Wossen et al. 2017). Si bien el efecto de la polinización en la producción se ha evaluado en términos económicos a diferentes escalas (Gallai et al. 2009, Giannini et al. 2015, Garrat et al. 2014, Borges et al. 2020, Geslin et al. 2017), las implicancias de la variabilidad del servicio de polinización para beneficio de los agricultores y el precio de mercado merece más atención.

3.5. Conclusión

Año tras año, los productores que manejan sistemas de cultivo homogéneos invierten mucho en fertilización y control de plagas. Sin embargo, cuando se trata de cultivos dependientes de polinizadores, estos sistemas presentan una gran variabilidad en el rendimiento debido a fluctuaciones y deficiencias en las visitas de los polinizadores a las flores de los cultivos. Los resultados aquí presentados demuestran la importancia de prácticas de manejo que promuevan

servicios de polinización suficientes y estables, en función de las demandas de cada cultivo, generando así rendimientos no solo más altos, sino también más estables.

3.6. Apéndice

Tabla A3.1 - Características climáticas del período de floración (días de floración) y de la temporada (días desde la floración hasta la cosecha) de cada cultivo y valores anuales. La temperatura se expresa en grados Celsius, la precipitación en milímetros y la velocidad del viento en kilómetros · hora⁻¹.

	Temporada	Temperatura media	Temperatura máxima	Temperatura mínima	Precipitaciones	Velocidad del viento media	Velocidad del viento máxima
Periodo de floración de la pera	16	12.03	18.22	6.07	0.28	3.13	28.71
	17	11.69	20.06	3.22	0	1.44	22.53
	18	13.06	19.93	5.82	1.04	1.82	25.26
	19	14.21	20.39	7.5	2.43	3.63	34.71
Periodo de floración de la manzana	16	11.46	18.37	3.44	0.96	2.59	27.82
	17	12.56	21.23	3.31	0	1.22	22.89
	18	13.71	19.56	8.17	1.16	3.71	33.24
	19	11.44	17.09	5.66	2.11	3.84	28.42
Periodo de la temporada de pera	16	17.19	24.6	8.56	0.2	2.84	29.24
	17	18.72	26.47	10.58	1.43	1.87	26.46
	18	19.09	26.79	10.74	0.35	2.56	29.02
	19	19.04	26.71	10.32	0.81	3.69	30.32
Periodo de la temporada de manzana	16	17.79	25.34	8.85	0.2	2.8	29.27
	17	19.24	26.99	11.06	1.36	1.82	26.32
	18	19.96	27.79	11.55	0.36	2.41	28.81
	19	19.61	27.41	10.87	0.65	3.39	29.41
Anual	16	13.11	20.84	5.34	0.26	2.03	24.24
	17	14.74	22.07	7.52	1.02	1.41	23.11
	18	14.46	22.4	6.57	0.34	1.89	25.27
	19	14.26	22.08	6.46	0.59	2.15	24.92

Tabla A3.2 - Coeficientes estimados de los modelos de 'variación espacial' sobre el efecto del tratamiento de exclusión, la tasa media de visitas o el coeficiente de variación espacial (CV) de la tasa de visitas, y el efecto de la temporada sobre el cuajado medio y el coeficiente de variación espacial del cuajado (CV), para peras y manzanas. La interacción entre variables se eliminó cuando no fue significativa. En el modelo de tratamiento de exclusión de manzanas, el cuajado se transformó logarítmicamente para lograr la normalidad.

		Pera		Manzana	
	Predictor	Cuajado de frutos	CV espacial del cuajado de frutos	Cuajado de frutos	CV espacial del cuajado de frutos
Modelos de exclusión	(Ordenada)	0.047 (0.001)	0.6 (0.2)	-2.35 (0.21)	0.7 (0.1)
	Exclusión	-0.030 (0.006)	1.2 (0.2)	-2.10 (0.32)	2.56 (0.2)
	Temporada2017	0.018 (0.01)	-0.2 (0.2)	-0.04 (0.23)	-0.0005 (0.1)
	Temporada2018	0.016 (0.009)	0.2 (0.2)	0.55 (0.23)	-0.1 (0.1)
	Temporada2019	0.032 (0.009)	-0.1 (0.2)	-0.59 (0.23)	0.04 (0.1)
	Exclusión:Temporada2017		0.3 (0.4)	1.78 (0.62)	-1.2 (0.3)
	Exclusión:Temporada2018		-0.8 (0.3)	-1.49 (0.50)	-0.5 (0.3)
	Exclusión:Temporada2019		-0.6 (0.3)	0.84 (0.60)	-1.5 (0.3)
Modelos de tasa de visitas	(Ordenada)	0.035 (0.009)	0.64 (0.09)	0.13 (0.03)	0.5 (0.1)
	Tasa de visitas	0.4 (0.2)	-4 (2)	-0.14 (0.11)	0.9 (0.3)
	Temporada2017	0.03 (0.01)	-0.2 (0.1)	-0.02 (0.03)	0.05 (0.09)
	Temporada2018	0.01 (0.01)	0.3 (0.1)	0.12 (0.04)	-0.3 (0.1)
	Temporada2019	0.02 (0.01)	0.1 (0.2)	-0.02 (0.04)	-0.2 (0.1)
Modelos de CV espacial de tasa de visitas	(Ordenada)	0.06 (0.01)	0.4 (0.1)	0.04 (0.05)	0.2 (0.3)
	CV espacial de tasa de visitas	-0.02 (0.01)	0.3 (0.1)	0.11 (0.06)	0.7 (0.4)
	Temporada2017	0.04 (0.01)	-0.3 (0.1)	-0.01 (0.03)	-0.5 (0.4)
	Temporada2018	0.03 (0.01)	0.04 (0.14)	0.10 (0.03)	0.3 (0.3)
	Temporada2019	0.04 (0.01)	-0.1 (0.1)	-0.02 (0.04)	0.9 (0.4)
	CV espacial de tasa de visitas:Temporada2017				0.8 (0.6)
	CV espacial de tasa de visitas:Temporada2018				-0.6 (0.4)
	CV espacial de tasa de visitas:Temporada2019				-1.8 (0.9)

Tabla A3.3 - Coeficientes estimados de los modelos de "variabilidad temporal". Las estimaciones del modelo que son más del doble de sus valores de error estándar se muestran en negrita. En el modelo de tratamiento de exclusión de manzanas, el cuajado se transformó logarítmicamente para lograr la normalidad.

		Pera		Manzana	
Predictor		Cuajado de frutos	CV temporal del cuajado de frutos	Cuajado de frutos	CV temporal del cuajado de frutos
Modelos de exclusión	(Ordenada)	0.063 (0.005)	0.42 (0.07)	-2.2 (0.3)	0.5 (0.1)
	Exclusión	-0.035 (0.006)	0.4 (0.1)	-3.1 (0.4)	1.2 (0.2)
Modelos de tasa de visitas	(Ordenada)		0.75 (0.09)		
	Tasa de visitas		-10 (2)		
Modelos de CV temporal de tasa de visitas	(Ordenada)		0.03 (0.12)		
	CV temporal de tasa de visitas		0.4 (0.10)		

Capítulo 4 – El manejo de la polinización a partir de polinizadores domesticados

Adaptado de: Hünicken, P. L., Morales, C. L., de Villalobos, A.E. y Garibaldi, L. A. (2022).

Evaluation of interactions between honeybees and alternative managed pollinators: a meta-analysis of their effect on crop productivity. *Agriculture, Ecosystems and Environment*.

4.1. Introducción

Mientras que los polinizadores silvestres son fundamentales para la producción agrícola (Garibaldi et al. 2013), sus poblaciones están disminuyendo debido a la pérdida de hábitat y a prácticas de manejo que utilizan grandes cantidades de agroquímicos (Kennedy et al. 2013, Biesmeijer et al. 2006, Goulson et al. 2010, Kremen et al. 2002, Potts et al. 2016). Por ello, para satisfacer la demanda de polinización de los cultivos dependientes de polinizadores y aumentar la productividad de los cultivos, es una práctica común la colocación en las chacras de polinizadores manejados, como *Apis mellifera*, *Bombus* spp., *Osmia* spp., entre otros, siendo la abeja melífera el polinizador más extendido y ampliamente utilizado (Osterman et al 2021, Paudel et al 2015).

Sin embargo, depender de *Apis mellifera* como polinizador manejado universalmente tiene algunos inconvenientes. En primer lugar, aunque un reciente meta-análisis global ha demostrado que el despliegue de colmenas de abejas puede reducir la limitación de polen en la mayoría de los cultivos (Sáez et al. 2022) y a pesar de sus características generalistas, *Apis* no poliniza de manera eficiente varios cultivos (e.g. Grass et al. 2018, MacInnis y Forrest 2019). En segundo lugar, en las últimas décadas ha aumentado la preocupación por el declive regional de colmenas, principalmente en los Estados Unidos de América y Europa (vanEngelsdorp et al. 2008, Potts et al. 2010b), pero también y más recientemente en América Latina (Requier et al. 2018). Esta situación ha llevado a poner la atención en polinizadores manejados alternativos (PMA en adelante), como algunas especies de abejorros (*Bombus* spp.) y abejas solitarias como *Osmia* spp. o *Megachile* spp., entre otros. De hecho, un estudio reciente revisó 66 especies de insectos que han sido manejadas o tienen el potencial de ser manejadas para la polinización de cultivos (Osterman et al. 2021). A pesar de este creciente interés en los PMA, hasta la fecha no existe una síntesis cuantitativa que compare su desempeño con el del polinizador manejado más importante del mundo, la abeja occidental *Apis mellifera* (aunque ver Junqueira et al. 2021).

La productividad de los cultivos dependientes de la polinización entomófila mejora con una mayor abundancia y/o diversidad de polinizadores a través de varios potenciales mecanismos (Winfree y Kremen 2009, Garibaldi et al 2013). Primero, la complementariedad de nicho, cuando diferentes especies forrajea bajo diferentes condiciones ambientales o en diferentes zonas dentro del cultivo o sectores de la misma planta (Blüthgen y Klein 2010, Hoehn et al. 2008, Ellis et al. 2017). En segundo lugar, los efectos de muestreo, cuando una mayor riqueza de polinizadores aumenta las posibilidades de que una especie proporcione una buena polinización (Klein et al. 2009). Estos dos mecanismos implicarían que el efecto observado sobre la productividad es complementario, o aditivo (es decir, la productividad aumenta linealmente con la inclusión de más especies). Finalmente, un tercer mecanismo es la interacción sinérgica entre especies, cuando una especie aumenta su eficiencia en presencia de otra especie modificando su comportamiento (Winfree y Kremen 2009). En este caso, la productividad de un cultivo, en un ambiente con más polinizadores, sería mayor que la productividad agregada de ese cultivo cuando es polinizado por cada especie polinizadora por separado. Explorar cómo se desarrollan estos diferentes mecanismos con *Apis mellifera* y PMA puede permitir una gestión de polinización más eficiente. Incluso, el efecto de aumentar la cantidad de polinizadores manejados sobre la productividad, así como el efecto de la interacción entre los polinizadores manejados, están mucho menos explorados y pueden brindar nuevos conocimientos de manejo sobre el papel de los PMA en los servicios de polinización.

La evaluación de la polinización realizada por diferentes polinizadores normalmente se enfoca en el estudio de la efectividad de una sola visita en términos de deposición de polen o formación de semillas o frutos (revisado en Page et al. 2021). Este enfoque es especialmente valioso en estudios de comunidades y redes de interacción, ya que permite distinguir entre meros visitantes florales y polinizadores efectivos/eficientes, es decir, aquellos visitantes florales que depositan polen con específico y compatible en la superficie estigmática de la flor (Ne'eman et al. 2010, King

et al. 2013). Sin embargo, dado que las recomendaciones de prácticas agrícolas deben basarse en escalas relevantes para los agricultores y probadas en entornos del mundo real, el objetivo de este capítulo fue evaluar el efecto final de las abejas melíferas y los PMA en la productividad de los cultivos a escala de la producción agrícola, es decir, el cuajado de frutos, el número de semillas, su calidad y/o el rendimiento del cultivo (e.g. tn/ha).

En este capítulo se sistematiza y cuantifica el conocimiento científico sobre el efecto de las abejas melíferas y los polinizadores manejados alternativos sobre la productividad de los cultivos. Con un enfoque meta-analítico, el objetivo es responder a las siguientes preguntas: 1) ¿La productividad de los cultivos difiere entre chacras con abejas melíferas y PMA?; 2) ¿Aumenta la productividad de los cultivos al incorporar PMA además de las abejas melíferas manejadas?; 3) ¿El efecto de las abejas melíferas manejadas interactúa con los PMA?

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Búsqueda de literatura y recopilación de datos.

Se realizó una búsqueda bibliográfica en Scopus que abarcó publicaciones desde 1962 hasta 2022 (última entrada el 23 de noviembre de 2021) utilizando las siguientes líneas de búsqueda:

“Pollination” AND (“Cuajado de fruto” OR “Número de semillas” OR “Yield” OR “Production” OR “Productivity”) AND (“Apis” OR “Honeybees” OR “Honeybees” OR “Honeybee” OR “Honeybee”) AND (“Bombus” OR “Bumblebees” OR “Bumble bees” OR “Bumblebee” OR “Bumble bee” OR “Osmia” OR “Megachile” OR “Solitary bees” OR “Melipona” OR “Xylocopa”).

Se encontró un total de 349 artículos. Dado que Scopus solo es capaz de buscar en el título, el resumen y las palabras clave, se realizó una búsqueda complementaria utilizando Google Scholar, que proporciona una búsqueda en el texto completo.

Se seleccionaron estudios que evaluaron el efecto de la polinización de cultivos por *Apis mellifera* y PMA en cualquier medida de la productividad de los cultivos (i.e. cuajado de frutos,

número de semillas, calidad de frutos/semillas y/o rendimiento). Por lo tanto, no se consideraron los estudios que evaluaron la efectividad y/o la eficiencia de una sola visita sobre la deposición de polen o la producción de cultivos, u otros aspectos del comportamiento de los polinizadores (e.g. frecuencia de cambio entre árboles, Eeraerts et al. 2020). Además, también se descartaron estudios en los que las condiciones de manejo varían entre tratamientos de polinizadores (por ejemplo, *Apis mellifera* en campo abierto vs. *Bombus* spp. en invernadero).

Se clasificaron los estudios según tres diseños experimentales: comparativo, aditivo y de interacción. El diseño comparativo es aquel que aplicó los siguientes dos tratamientos: *Apis mellifera* vs PMA. El diseño aditivo es aquel que aplicó los siguientes dos tratamientos: *Apis mellifera* vs *Apis mellifera* más PMA. El diseño de interacción es aquel que aplicó los siguientes tres tratamientos: *Apis mellifera* vs PMA vs *Apis mellifera* más PMA. Por lo tanto, el diseño de interacción puede verse como los dos diseños anteriores combinados. De hecho, los datos de este diseño se incorporaron en los meta-análisis de los dos diseños anteriores.

Para cada estudio, se extrajo la media, la desviación estándar y el número de observaciones de las variables analizadas, es decir cuajado de frutos, número de semillas, calidad de frutos/semillas y/o rendimiento. Cuando faltaba alguno de estos valores, se intentó contactar a los autores para solicitarles ese dato. Si los datos estaban presentados gráficamente, se extrajeron los valores utilizando el software *PlotDigitizer* (<http://plotdigitizer.sourceforge.net>). También fueron clasificados los estudios según el grado de dependencia de la polinización entomófila de cada cultivo utilizando las categorías de Klein et al. 2007 (ver material suplementario ibidem). Cuando un cultivo no había sido clasificado, se le asignó la categoría correspondiente en base al resultado de ese estudio. La Tabla A.1 (Apéndice) enumera todos los artículos encontrados.

4.2.2. Análisis de los datos

Los tamaños del efecto calculados representan la diferencia entre los tratamientos de polinización (es decir, *Apis* vs PMA, o *Apis* vs *Apis* más PMA) sobre la variable de productividad del cultivo. Cuando un estudio informaba los resultados durante más de un año, los tamaños del efecto se calcularon por separado y ambos se incluyeron en el modelo. En aquellos estudios que informaban sus resultados diferenciados por chacra, se calculó la media de todas las chacras. Para comparar las respuestas en términos de productividad del cultivo entre tratamientos, se usó el logaritmo natural de la relación de las respuestas entre el tratamiento “PMA” o “*Apis* más PMA” y “*Apis*” como tamaño del efecto ($\ln(R)$). Esta métrica linealiza y normaliza la diferencia relativa entre dos tratamientos, como una medida del tamaño del efecto en los estudios. $\ln(R)$ se estimó como $\ln(X_{\text{PMA}}/X_{\text{Apis}})$, para el diseño comparativo y como $\ln(X_{\text{PMA+Apis}}/X_{\text{Apis}})$ para el diseño aditivo, donde X_{PMA} , $X_{\text{PMA+Apis}}$ y X_{Apis} son la productividad media del cultivo observada en entornos experimentales que implementan PMA, PMA más *Apis* o *Apis*, respectivamente. Un valor positivo indica mejoras en la productividad del cultivo con el polinizador alternativo en comparación con *Apis* en el diseño comparativo (primera pregunta), y con *Apis* más el polinizador alternativo en comparación con *Apis* sola, en el diseño aditivo (segunda pregunta), un valor negativo indica lo contrario, mientras que el valor nulo representa ausencia de efecto entre tratamientos. Los cálculos se realizaron con el software R (R Core Team 2021), los tamaños del efecto se calcularon con la función *scalr* y los tamaños del efecto general se calcularon con la función *rma.mv*, ambos de paquete ‘metafor’ (Viechtbauer 2010). Debido a que las respuestas del mismo estudio no son completamente independientes, se incluyó la identidad del estudio como un factor aleatorio.

Dado que el cuajado de frutos o número de semillas, su calidad y el rendimiento del cultivo del mismo estudio están correlacionados (lo cual era común en los datos colectados, Tabla A.1), se realizaron meta-análisis individuales para cada variable de respuesta. Sin embargo, esto solo fue posible para el diseño comparativo, debido a que el número de tamaños de efecto para la calidad del

fruto/semilla y el rendimiento en el diseño aditivo fue demasiado bajo (7 y 4 respectivamente), por lo que en este caso solo se realizó un meta-análisis para la respuesta del cuajado de frutos/semillas.

Finalmente, debido a la baja cantidad de estudios con diseño de interacción, no se pudo realizar un meta-análisis individual para este diseño. Por lo tanto, para responder a la pregunta de si las abejas melíferas interactúan con polinizadores manejados alternativos, se adoptó el enfoque que se describe a continuación. Para los estudios con diseño aditivo se registró la densidad de colmenas. Luego, se realizó una regresión del tamaño del efecto en función de la densidad de las colmenas. Una interacción positiva (sinergia) entre PMA y *Apis mellifera* se reflejaría con una pendiente positiva. Una pendiente cercana a cero apunta a efectos aditivos (o efecto complementario), mientras que una pendiente negativa significaría una interacción negativa. Este análisis se realizó con la función *lm* del paquete 'base' (R Core Team 2021). Se comprobaron visualmente los supuestos de normalidad, independencia y homocedasticidad del modelo (QQ-plot, predichos vs. residuos e histograma de residuos).

4.3. Resultados

4.3.1. Visión general

Se encontraron 43 estudios con diseños experimentales apropiados (31 de diseño comparativo, 9 de diseño aditivo y 3 de diseño de interacción) de los cuales se obtuvieron los datos completos de 28 estudios (17 de diseño comparativo, 9 de diseño aditivo y 2 de diseño de interacción) (Figura 4.1 y Tabla A.1 en el apéndice). Se estudiaron 30 cultivos pertenecientes a 12 familias, siendo Rosaceae (e.g. manzana, almendra) la familia más representada con 15 estudios; seguida de Ericaceae (e.g. arándano) y Fabaceae (e.g. alfalfa) con 5 estudios cada una; Solanaceae (e.g. tomate) y Cucurbitaceae (e.g. calabaza) con 4 estudios cada una; Brassicaceae (e.g. colza) con 3 estudios; Asteraceae (e.g. girasol) con 2 estudios; y Actinidiaceae (kiwi), Apiaceae (zanahoria para la producción de semillas), Lamiaceae (savia), Paeoniaceae (peonía) y Sapindaceae (lichi) con 1

estudio cada una. Veintitrés cultivos son perennes mientras que veinte son anuales, y la mayoría de ellos son de climas templados, con algunas excepciones como el pimiento dulce, el chile y el melón.

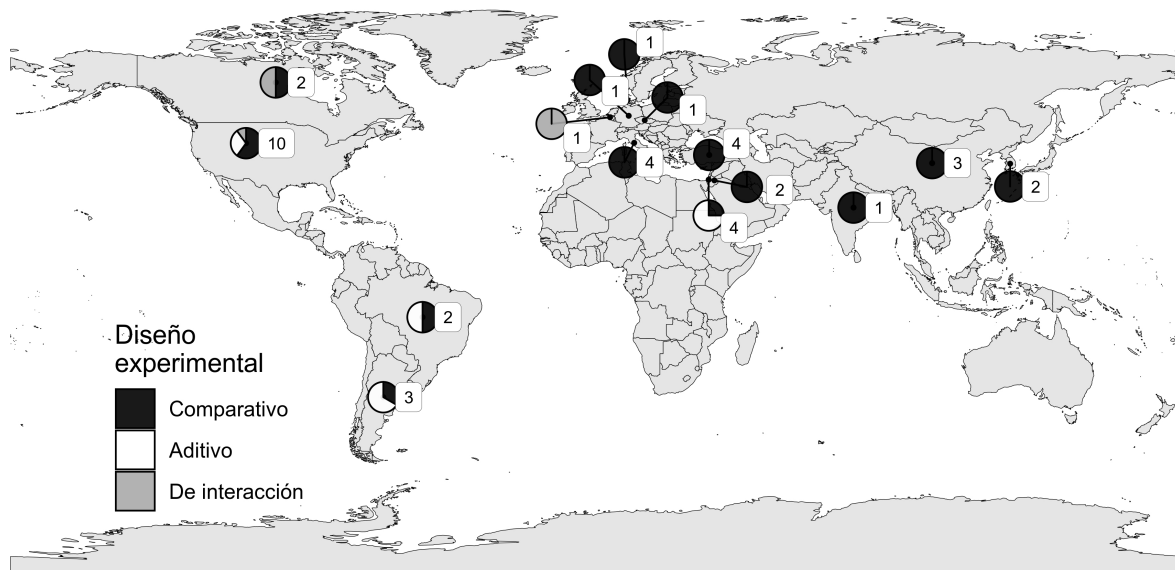


Figura 4.1 – Distribución geográfica de los estudios encontrados. El número indica el número de estudios, mientras que el gráfico de torta muestra la proporción de cada tipo de diseño experimental (negro: comparativo, blanco: aditivo y gris: interactivo).

4.3.2. Comparaciones entre *Apis* y polinizadores gestionados alternativos

Fueron 19 los estudios con datos completos (17 de diseño comparativo y 2 de diseño de interacción) que evaluaron en 12 cultivos el efecto de *Apis mellifera* y de PMAs sobre la productividad del cultivo (Tabla A.1). La dependencia de los polinizadores de los cultivos varió desde poca (reducción de la producción de <10 % en ausencia de polinizadores) hasta esencial (reducción de >90 %). Las especies de polinizadores alternativos pertenecen a los géneros *Bombus*, *Osmia*, *Megachile*, *Xylocopa*, *Melipona* y *Eristalis*. La mayoría de los estudios (15) se realizaron en condiciones de invernadero, tres estudios fueron a campo abierto y un estudio presentó ambas condiciones.

Los tamaños del efecto generales de los tres análisis (i.e. las variables de respuesta cuajado de fruto/número de semilla, calidad y rendimiento) se informan en la Tabla 4.1. Los intervalos de confianza del 95 % asociados con los tres tamaños del efecto incluyen al cero, lo que indica que no hubo diferencias estadísticamente significativas en la productividad de los cultivos entre la polinización realizada por abejas manejadas y PMA. Sin embargo, para el modelo de cuajado de frutos/número de semillas, hubo una heterogeneidad considerable en la respuesta dependiendo de la especie de PMA. Mientras que la ausencia de efecto fue consistente entre *Bombus* y otros géneros de polinizadores manejados, el tamaño del efecto *Osmia* está consistentemente por debajo de 0 (Figura 4.2-A).

Tabla 4.1 – Tamaños del efecto generales para el diseño experimental comparativo (i.e. *Apis mellifera* vs polinizador manejado alternativo) y aditivo (*Apis mellifera* vs *Apis mellifera* más polinizador manejado alternativo). El tamaño del efecto general tiene entre paréntesis el intervalo de confianza del 95%. N = número de comparaciones analizadas. Entre paréntesis se informa el número de estudios incluidos en el análisis.

Número de comparaciones de las variables respuesta

	Cuajado de frutos/número de semillas	Calidad	Rendimiento
Comparativo	-0.08 [-0.22, 0.06] N=37 (13)	-0.06 [-0.13, 0.01] N=16 (9)	-0.35 [-1.00, 0.30] N=20 (12)
Aditivo	0.22 [0.10, 0.35] N=21 (11)	—	—

4.3.3. Efecto de incorporar un polinizador manejado alternativo junto con *Apis*

Once estudios (incluidos los dos con diseño experimental de interacción) con datos completos evaluaron en 8 cultivos el efecto de un polinizador alternativo junto con *Apis mellifera* sobre la productividad del cultivo (Tabla A.1). La mayoría de los cultivos estudiados tenían una dependencia de polinizadores categorizada como grande (reducción de la producción entre 40 y 90%), a excepción de dos cultivos, uno cuya dependencia de polinizadores era pequeña y el otro cuya dependencia de polinizadores era modesta. Las especies polinizadoras alternativas pertenecen a los géneros *Bombus*, *Osmia*, *Megachile* y *Melipona*. A diferencia de los estudios comparativos, todos los estudios aditivos se realizaron en campo abierto. Es de destacar que ninguno realizó un control de la abundancia total de polinizadores. El análisis de la respuesta del cuajado de frutos/número de semillas mostró un tamaño del efecto general (IC del 95%) de 0,17 (0,08, 0,26), lo que indica un efecto positivo consistente por la inclusión de otro polinizador junto con las abejas melíferas, que implica un aumento ($\pm$ SE) de 22% ($\pm$ 6) en la productividad del cultivo (Figura 4.2-B, Tabla 4.1).

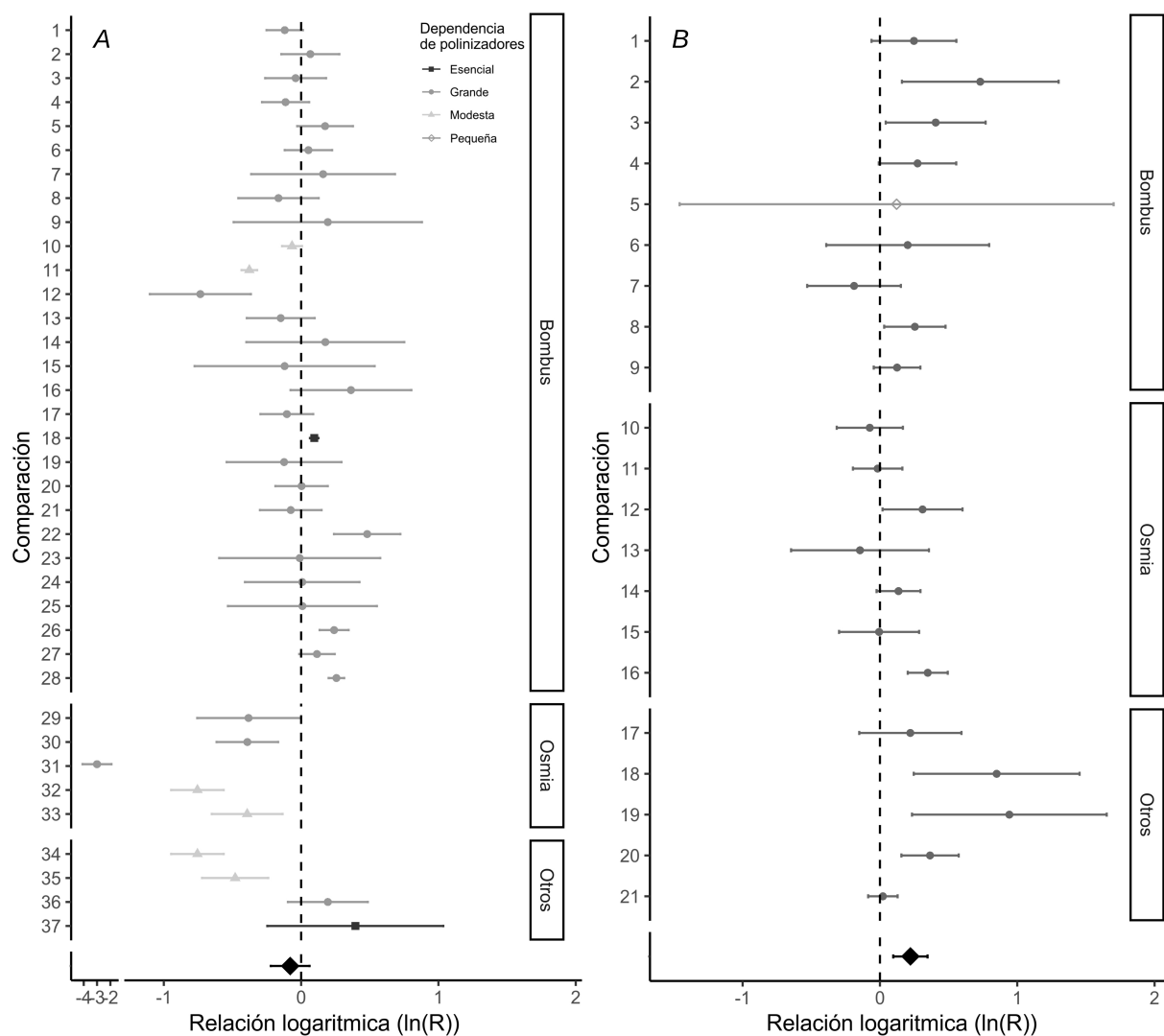


Figura 4.2 – Diagrama de bosque que representa el tamaño del efecto de cada comparación para el meta-análisis de diseño comparativo y aditivo. Los tamaños del efecto representan la diferencia en el cuajado de frutos o semillas entre tratamientos de polinización, A: polinizador manejado alternativo vs *Apis* y B: polinizador alternativo más *Apis* vs *Apis*. Cada punto representa el tamaño del efecto de una comparación (y los bigotes muestran el intervalo de confianza del 95 %) Los símbolos indican diferente grado de dependencia de los polinizadores según las categorías de Klein et al. 2007 (cuadrado: esencial, círculo: grande, triángulo: modesta y rombo: pequeña). Los polinizadores manejados alternativos estudiados se informan a la derecha. El tamaño general del efecto se representa con un diamante negro en la parte inferior. Para una mejor visualización, las comparaciones fueron numeradas y la referencia puede hallarse en la Tabla A.2 en el apéndice.

4.3.4. Evidencia de interacciones entre *Apis* y polinizadores alternativos

Solo 3 estudios (2 proporcionaron datos completos) tenían el diseño experimental de interacción (Brittain et al. 2013, Fulton et al. 2015, Smessaert et al. 2021). Brittain et al. (2013) encontraron evidencia de un efecto sinérgico sobre el cuajado de frutos entre *Apis* y *Osmia*, mientras que Smessaert et al. (2021) encontraron mayores mejoras en el cuajado y el rendimiento con *Apis* sola en comparación con *Bombus* o *Apis* junto con *Bombus* (es decir, interacción negativa). Por su parte, Fulton et al. (2015) presentan una plétora de análisis en varias dimensiones de polinización y producción (e.g. evaluación económica, cambios de comportamiento de polinizadores manejados, carga de polen estigmática) pero, a pesar de tener el diseño experimental de interacción, no analizaron los datos bajo dicho enfoque. Se calculó el efecto de cada tratamiento y no se encontraron diferencias entre ellos (es decir, no hay interacción, no se muestran los datos). Sin embargo, el enfoque alternativo a esta pregunta basado en el efecto de la densidad de las colmenas proporcionó información para responder esta pregunta. El tamaño del efecto de agregar un PMA junto a *Apis* aumentó significativamente con la densidad de las colmenas, lo que denota una interacción sinérgica entre *Apis* y los PMA ($F_{1,14DF}=5.236$, valor $p = 0.038$, Figura 4.3).

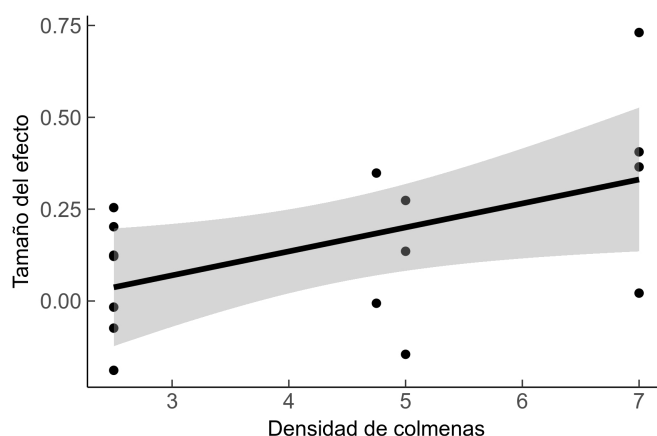


Figura 4.3 – tamaños del efecto de estudios de diseño aditivo versus densidad de colmenas. El tamaño del efecto representa la diferencia entre los tratamientos de polinización (*Apis* más un polinizador alternativo vs *Apis*) sobre el cuajado de frutos o de semillas. Un valor positivo indica mejoras en la respuesta con la adición de un polinizador alternativo. La banda gris representa el intervalo de confianza de la línea de predicción.

4.4. Discusión

Esta revisión evalúa tres aspectos claves del manejo de polinizadores en cultivos: el desempeño relativo de las abejas melíferas y los polinizadores manejados alternativos, las posibilidades de mejorar la polinización de las abejas melíferas con la adición de polinizadores manejados alternativos y la interacción entre las abejas melíferas y los polinizadores manejados alternativos. En adelante se discuten las implicancias derivadas de los hallazgos previamente informados, sus límites, así como posibles futuros pasos para la investigación.

No hay una diferencia clara en la productividad de los cultivos polinizados por abejas manejadas en comparación con los cultivos polinizados con polinizadores manejados alternativos, especialmente *Bombus*. Un resultado similar fue encontrado por Junqueira et al. (2021), quienes compararon la contribución de abejas *Apis* y no-*Apis* con respecto al tratamiento de exclusión de insectos a las flores. Por otro lado, Page et al. (2021) realizaron un meta-análisis con respecto a la eficiencia de una sola visita y encontraron que las abejas melíferas se desempeñaron peor que el

mejor polinizador y que el polinizador promedio por visita. Esto, que aparentemente contradice el resultado desarrollado aquí, puede encontrar una explicación en la alta abundancia y frecuencia de visitas de las abejas melíferas, lo que a su vez puede compensar su menor eficiencia per cápita. El número de individuos en una colmena (del orden de decenas de miles) puede ser órdenes de magnitud mayor que el de una colonia de abejorros (e.g. cien obreras, Cavigliaso et al. 2020) o el de las unidades de manejo de abejas solitarias (e.g. 120 nidos de *Osmia*, Pinzauti et al. 1997). Por ejemplo, King et al. (2013) encontraron en *Agrimonia eupatorium* que la especie polinizadora con mayor deposición de polen a escala de horas y de días era la menos efectiva a escala de visita única, y viceversa. De manera similar, Olsen (1996) calculó la “importancia del polinizador” como el producto de la efectividad y la abundancia relativa, lo que lleva a que los polinizadores más importantes de *Heterotheca subaxillaris* sean aquellos con niveles intermedios de eficiencia y abundancia relativa. Finalmente, Vázquez et al (2005) muestran con un meta-análisis que la frecuencia de interacción entre polinizadores y flores está fuertemente relacionada con la polinización final, en lugar del efecto por interacción (es decir, por visita). Si bien los estudios de eficiencia de una sola visita son importantes a nivel comunitario y de estructura de redes (King et al. 2013), los resultados presentados aquí destacan el valor de haber analizado el efecto final de los polinizadores en la productividad de los cultivos.

Los diseños comparativos generalmente se implementaron en invernaderos o jaulas de vuelo. En este ambiente confinado, se espera que el desempeño de *Apis mellifera* se vea comprometido, sin embargo, no se encontraron evidencias en esa dirección. Estos hallazgos son particularmente relevantes, ya que el comercio mundial de abejorros se basa en la creencia de que *Bombus* es mejor polinizador que *Apis* en sistemas confinados (Abrol 2012, Dag 2007). El resultado de esto es una inmensa presión de propágulos, que facilita la invasión de estas especies, casuando un amplio espectro de impactos negativos en los ecosistemas nativos y la agricultura (Aizen et al. 2019b).

Se encontraron solo once estudios con datos completos (incluidos aquellos con diseño de interacción) que analizaron el efecto de incorporar especies de polinizadores alternativos junto con *Apis mellifera*. En la mayoría de las comparaciones de cuajado de frutos y números de semillas, el efecto es consistente y positivo, lo que lleva a un efecto general de un aumento del 22 % en la productividad. Si bien tanto la interacción complementaria como la sinérgica pueden producir este efecto, el análisis de las densidades de las colmenas sugiere que el mecanismo subyacente a este patrón es un efecto sinérgico (Winfree y Kremen 2009). Incluso, los resultados particulares al comparar el desempeño de *Osmia* también avalan esta explicación. Al comparar la productividad agrícola de los campos suplementados con *Apis* u *Osmia* se veía que la primera generaba mejores resultados, por lo que podría esperarse que la combinación de ambos polinizadores no genere un efecto apreciable. Sin embargo, al ver la Figura 4.2-B puede apreciarse que se produce un efecto sinérgico con la inclusión de *Osmia*, demostrando que la riqueza de polinizadores es fundamental para lograr buenos rendimientos agrícolas.

4.4.1. Advertencias, limitaciones e investigaciones futuras

Una limitación importante de los artículos revisados fueron las condiciones experimentales. La mayoría de los estudios de diseño comparativo se realizaron en jaulas de vuelo o invernaderos, lo cual es una condición poco común para varios de los cultivos estudiados. Esto hace que las conclusiones sobre el efecto de los polinizadores controlados sean difíciles de extrapolar a la mayoría de los sistemas de cultivo del mundo real. De hecho, Smessaert et al. (2021) explican que el efecto negativo de los abejorros y los abejorros más las abejas melíferas que encontraron probablemente se debió a la polinización excesiva de las flores de pera en las jaulas asignadas a esos tratamientos. Los estudios de campo abierto presentan la dificultad en poder discernir entre el efecto de los polinizadores manejados y otros factores que pueden estar influyendo en la productividad, incluidos los polinizadores silvestres. Sin embargo, llevados a cabo en un sistema

adecuado, pueden permitir arribar a conclusiones más precisas sobre el desempeño de estos polinizadores para mejorar la productividad de los cultivos.

En cuanto a los estudios aditivos y de interacción, solo uno (Fulton et al. 2015) de los doce estudios controló de alguna manera el número total de individuos de cada tratamiento. Por esta razón, es posible que el efecto positivo que se encontró con la adición de PMA a los cultivos con abejas melíferas se deba a un aumento en el número absoluto de individuos que visitan las flores del cultivo, independientemente de su identidad de especie. En cualquier caso, este mecanismo no explica la pendiente positiva encontrada en el análisis de densidad de colmenas (Fig. 4.3), que claramente sugiere un efecto sinérgico entre las abejas melíferas y los PMA. Sin embargo, futuras investigaciones con estos diseños deberían incorporar un "control de abundancia", mediante el monitoreo de las frecuencias de visitas florales, para evitar la mala interpretación de sus resultados y permitir desentrañar el efecto de aumentar la diversidad del efecto de aumentar la abundancia de polinizadores en la productividad de los cultivos.

Es necesario resaltar que el uso de polinizadores manejados, ya sean abejas melíferas u otros, está asociado con varios riesgos. Primero, el movimiento de especies fuera de su rango de distribución puede derivar en la invasión de nuevas especies (Agüero et al. 2020, Morales et al. 2013). En segundo lugar, los polinizadores manejados pueden pasar de los campos de cultivos a los hábitats naturales, alterando las redes de interacción entre las plantas nativas y los polinizadores (Agüero et al. 2020, Gonzalez-Varo y Vila 2017). En tercer lugar, la crianza de especies polinizadoras puede facilitar la propagación de enfermedades entre polinizadores, tanto de transmisión interespecífica como intraespecífica (Arbetman et al. 2013, Colla et al. 2006). De hecho, una posible causa de la pérdida de colonias de abejas melíferas es el aumento de la incidencia de varias enfermedades, producto de su uso para polinizar diferentes campos a grandes distancias (Potts et al. 2010). Más aún, si además de los costes ambientales de utilizar polinizadores manejados, se consideran los precios de contratar servicios de polinización (Velthuis y van Doorn

2006, Rucker et al. 2012), puede encontrarse un argumento extra para la búsqueda de alternativas a la polinización manejada. En este sentido, los polinizadores silvestres pueden brindar una polinización confiable y de bajo costo para los cultivos (Garibaldi et al. 2013, Kennedy et al. 2013).

4.5. Conclusión

A partir de los resultados de este capítulo, puede concluirse que el manejo de la polinización de cultivos mediante el despliegue de colmenas de abejas combinadas con otros PMA puede ser una alternativa a corto plazo para aumentar la productividad de los cultivos, pero esta decisión debe tomarse con conciencia del posible impacto que puede tener sobre la biodiversidad. Por ejemplo, con el análisis de los estudios comparativos se puede ver que el efecto sobre la productividad de la abeja melífera no difiere de aquel de los polinizadores manejados alternativos, por lo que el uso del primero puede representar un impacto menor en regiones donde la apicultura es una práctica común, mientras que el uso de PMA puede ser una mejor opción en las regiones donde son nativos. No obstante, al evaluar el efecto de incorporar polinizadores manejados alternativos junto con *Apis* en un cultivo, puede verse que aumentar el número de polinizadores manejados puede ser una alternativa a corto plazo para mejorar la productividad de un cultivo, particularmente en sistemas con faunas de polinizadores empobrecidas.

4.6. Apéndice

Tabla A.1 – Lista de estudios con diseño experimental apropiado. Ambiente: Cerrado = Experimento llevado a cabo en invernaderos o jaulas de vuelo;

Abierto = Campo abierto. Tipo de comparaciones: 1 = Cuajado de frutos; 2 = Número de semillas; 3 = Calidad del fruto/semilla; 4 = Rendimiento.

Dependencia de polinizadores: Se aplicaron las categorías de Klein et al. 2007 (ver material suplementario 2. Cuando el cultivo no estaba categorizado allí se realizó la categorización según el resultado del estudio (marcado con asterisco), cuando no fue posible se dejó en blanco. Categorías de

dependencia de los polinizadores: esencial = reducción de la producción en ≥ 90 % comparando experimentos con y sin polinizadores; grande = 40 -

<90 % de reducción; Modestao = 10 - <40 % de reducción; y poco = >0 - <10 % de reducción.

Diseño experimental	Polinizador alternativo	Ambiente	País	Datos completos	Variable respuesta	Cultivo	Dependencia de polinizadores	Referencia
Comparativo	<i>Bombus</i>	Cerrado	Argentina	Yes	1,2,3	Arándano	Grande	Cavigliasso et al. 2020
	<i>Bombus</i>	Abierto	Canadá	Yes	1,2,3,4	Arándano	Grande	Stubbs & Drummond 2001
	<i>Bombus</i>	Cerrado	China	Yes	1,2,3,4	Penía	Modesta*	He et al. 2020
	<i>Bombus</i>	Cerrado	China	Yes	4	Arándano	Grande	Sun et al. 2021
	<i>Bombus</i>	Cerrado	China	Yes	1	Durazno	Grande	Zhang et al. 2015
	<i>Bombus</i>	Cerrado	República Checa	Yes	3,4	Savia	--	Dusek et al. 2012
	<i>Bombus</i>	Cerrado	India	No	1,2,3,4	Kiwi	Esencial	Nayak et al. 2019
	<i>Bombus</i>	Cerrado	Italia	No	1,2,3	Alcaucil	--	Mazzeo et al. 2020
	<i>Bombus</i>	Cerrado	Jordán	No	1,3	Berenjena	Modesta	Al-abbadi 2009
	<i>Bombus</i>	Cerrado	Jordán	No	1,3	Pimiento dulce	Pequeña	Al-abbadi 2009

Diseño experimental	Polinizador alternativo	Ambiente	País	Datos completos	Variable respuesta	Cultivo	Dependencia de polinizadores	Referencia
	<i>Bombus</i>	Cerrado	Jordán	No	1,3	Chile	Pequeña	Al-abbadi 2009
Comparativo	<i>Bombus</i>	Cerrado	Jordán	No	1,3	Frutilla	Modesta	Zaitoun et al. 2006
	<i>Bombus</i>	Both	Corea del Sur	Yes	1	Pera asiática	Grande	Lee et al. 2017
	<i>Bombus</i>	Cerrado	Corea del Sur	No	3	Melón	Esencial	Shin et al. 2007
	<i>Bombus</i>	Cerrado	Turquía	No	2,3,4	Girasol	Modesta	Aslan & Yavuksuz 2010
	<i>Bombus</i>	Cerrado	Turquía	Yes	1,2,4	Trébol blanco	Grande*	Cecen et al. 2007
	<i>Bombus</i>	Cerrado	Turquía	Yes	1,2,4	Alfalfa	Grande*	Cecen et al. 2008
	<i>Bombus</i>	Cerrado	Turquía	No	1,2,3,4	Melón	Esencial	Dasgan et al. 1999
	<i>Bombus</i>	Abierto	EEUU	Yes	4	Calabaza	Esencial	Petersen et al. 2013
	<i>Bombus</i>	Cerrado	EEUU	Yes	2,4	Trébol rojo	Esencial	Rao & Stephen 2009
	<i>Bombus, Osmia</i>	Cerrado	Dinamarca	Yes	1,4	Guinda	Grande	Hansted 2015
	<i>Bombus, Osmia</i>	Cerrado	Italia	Yes	3,4	Ciruela japonesa	Grande	Calzoni & Speranza 1998
	<i>Bombus, Osmia</i>	Cerrado	EEUU	No	1,3,4	Arándano	Grande	West & McCutcheon 2009
	<i>Megachile</i>	Cerrado	EEUU	No	1,2,4	Soja	Modesta	Koelling et al. 1981
	<i>Megachile</i>	Cerrado	EEUU	Yes	4	Zanahoria (para semilla)	--	Tepedino 1997
	<i>Melipona</i>	Cerrado	Brasil	No	4	Tomate	Pequeña	dos Santos et al. 2009
	<i>Osmia</i>	Cerrado	Italia	Yes	3,4	Colza	Modesta	Ladurner et al. 2002
	<i>Osmia</i>	Cerrado	Italia	No	1,3	Mora	Grande	Pinzauti et al. 1997
	<i>Osmia</i>	Cerrado	EEUU	No	4	Colza	Modesta	Wilson et al. 1999
	<i>Osmia, Eristalis</i>	Cerrado	Alemania	Yes	1,2,3,4	Colza	Modesta	Jauker et al. 2018

Diseño experimental	Polinizador alternativo	Ambiente	País	Datos completos	Variable respuesta	Cultivo	Dependencia de polinizadores	Referencia
	<i>Xylocopa</i>	Cerrado	Israel	Yes	2,3	Melón	Esencial*	Sadeh et al. 2007
Aditivo	<i>Bombus</i>	Abierto	Argentina	Yes	1,2,4	Manzana	Grande	Pérez-Méndez et al. 2020
	<i>Bombus</i>	Abierto	Israel	Yes	2,3	Manzana	Grande	Sapir et al. 2017
	<i>Bombus</i>	Abierto	Israel	Yes	1,4	Lichi	Pequeña	Sapir et al. 2019
	<i>Bombus</i>	Abierto	Israel	Yes	1,2,3,4	Pera	Grande	Zisovich et al. 2012
	<i>Megachile</i>	Abierto	Argentina	Yes	1	Alfalfa	Grande*	Haedo et al. 2022
	<i>Melipona</i>	Abierto	Brasil	Yes	1	Manzana	Grande	Viana et al. 2014
	<i>Osmia</i>	Abierto	EEUU	Yes	1,3	Cereza	Grande	Boyle & Pitts-Singer 2019
	<i>Osmia</i>	Abierto	EEUU	Yes	3	Frutilla	Modesta	Horth & Campbell 2018
	<i>Osmia</i>	Abierto	EEUU	Yes	1	Almendra	Grande	Pitts-Singer et al. 2018
Interacción	<i>Bombus</i>	Cerrado	Bélgica	No	1,3,4	Pera	Grande	Smessaert et al. 2021
	<i>Bombus</i> , <i>Megachile</i>	Abierto	Canadá	Yes	1	Arándano	Grande	Fulton et al. 2015
	<i>Osmia</i>	Cerrado	EEUU	Yes	1	Almendra	Grande	Brittain et al. 2013

Tabla A.2 – Detalles de las comparaciones numeradas en la Figura 4.2.

Diseño experimental	Comparación	Variable respuesta	Polinizador alternativo	Referencia
Comparativo	1	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Cavigliasso et al. 2020
	2	Número de semillas	<i>Bombus</i>	Cavigliasso et al. 2020
	3	Número de semillas	<i>Bombus</i>	Cecen et al. 2007
	4	Número de semillas	<i>Bombus</i>	Cecen et al. 2007
	5	Número de semillas	<i>Bombus</i>	Cecen et al. 2008
	6	Número de semillas	<i>Bombus</i>	Cecen et al. 2008
	7	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Fulton et al. 2015
	8	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Hansted et al. 2015
	9	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Hansted et al. 2015
	10	Número de semillas	<i>Bombus</i>	He et al. 2020
	11	Número de semillas	<i>Bombus</i>	He et al. 2020
	12	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Lee et al. 2017
	13	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Lee et al. 2017
	14	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Lee et al. 2017
	15	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Lee et al. 2017
	16	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Lee et al. 2017
	17	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Lee et al. 2017
	18	Número de semillas	<i>Bombus</i>	Rao & Stephen 2009
	19	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Stubbs & Drummond 2001
	20	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Stubbs & Drummond 2001
	21	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Stubbs & Drummond 2001
	22	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Stubbs & Drummond 2001
	23	Número de semillas	<i>Bombus</i>	Stubbs & Drummond 2001
	24	Número de semillas	<i>Bombus</i>	Stubbs & Drummond 2001
	25	Número de semillas	<i>Bombus</i>	Stubbs & Drummond 2001
	26	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Zhang et al. 2015
	27	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Zhang et al. 2015

Diseño experimental	Comparación	Variable respuesta	Polinizador alternativo	Referencia
	28	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Zhang et al. 2015
	29	Cuajado de frutos	<i>Osmia</i>	Brittain et al. 2013
	30	Cuajado de frutos	<i>Osmia</i>	Hansted et al. 2015
	31	Cuajado de frutos	<i>Osmia</i>	Hansted et al. 2015
	32	Cuajado de frutos	<i>Osmia</i>	Jauker et al. 2012
	33	Número de semillas	<i>Osmia</i>	Jauker et al. 2012
	34	Cuajado de frutos	<i>Eristalis</i>	Jauker et al. 2012
	35	Número de semillas	<i>Eristalis</i>	Jauker et al. 2012
	36	Cuajado de frutos	<i>Megachile</i>	Fulton et al. 2015
	37	Número de semillas	<i>Xylocopa</i>	Sadeh et al. 2007
Aditivo	1	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Fulton et al. 2015
	2	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Pérez-Méndez et al. 2020
	3	Número de semillas	<i>Bombus</i>	Pérez-Méndez et al. 2020
	4	Número de semillas	<i>Bombus</i>	Sapir et al. 2017
	5	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Sapir et al. 2019
	6	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Zisovich et al. 2012
	7	Cuajado de frutos	<i>Bombus</i>	Zisovich et al. 2012
	8	Número de semillas	<i>Bombus</i>	Zisovich et al. 2012
	9	Número de semillas	<i>Bombus</i>	Zisovich et al. 2012
	10	Cuajado de frutos	<i>Osmia</i>	Boyle & Pitts-Singer 2019
	11	Cuajado de frutos	<i>Osmia</i>	Boyle & Pitts-Singer 2019
	12	Cuajado de frutos	<i>Osmia</i>	Brittain et al. 2013
	13	Cuajado de frutos	<i>Osmia</i>	Pitts-Singer et al. 2018
	14	Cuajado de frutos	<i>Osmia</i>	Pitts-Singer et al. 2018
	15	Cuajado de frutos	<i>Osmia</i>	Pitts-Singer et al. 2018
	16	Cuajado de frutos	<i>Osmia</i>	Pitts-Singer et al. 2018
	17	Cuajado de frutos	<i>Megachile</i>	Fulton et al. 2015
	18	Cuajado de frutos	<i>Megachile</i>	Haedo et al. 2021
	19	Cuajado de frutos	<i>Megachile</i>	Haedo et al. 2021
	20	Número de semillas	<i>Melipona</i>	Viana et al. 2014
	21	Número de semillas	<i>Melipona</i>	Viana et al. 2014

4.6.1. Bibliografía

Al-Abbadi, S. Y. A. (2009). Efficiency of different pollination treatments on Solanaceae yields grown in plastic house. *Journal of Biological Sciences*, 9(5), 464-469.

<https://dx.doi.org/10.3923/jbs.2009.464.469>

Aslan, M. M., & Yavuksuz, C. (2010). Effect of honey bee (*Apis mellifera* L.) and bumblebee (*Bombus terrestris* L.) pollinators on yield and yield factors in sunflower (*Helianthus annuus* L.) production areas. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(2), 332-335.

<https://doi.org/10.3923/javaa.2010.332.335>

Boyle, N. K., & Pitts-Singer, T. L. (2019). Assessing blue orchard bee (*Osmia lignaria*) propagation and pollination services in the presence of honey bees (*Apis mellifera*) in Utah tart cherries. *PeerJ*, 7, e7639. <https://doi.org/10.7717/peerj.7639>

Brittain, C., Williams, N., Kremen, C., & Klein, A. M. (2013). Synergistic effects of non-*Apis* bees and honey bees for pollination services. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1754), 20122767. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.2767>

Calzoni, G. L., & Speranza, A. (1998). Insect controlled pollination in Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Scientia Horticulturae*, 72(3-4), 227-237. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(97\)00132-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(97)00132-5)

Cavigliasso, P., Bello, F., Rivadeneira, M. F., Monzon, N. O., Gennari, G. B., & Basualdo, M. (2020). Pollination efficiency of managed bee species (*Apis mellifera* and *Bombus pauloensis*) in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) productivity. *J. Hortic. Res*, 28(1), 57-64. <https://doi.org/10.2478/johr-2020-0003>

Cecen, S., Gosterit, A., & Gurel, F. (2007). Pollination effects of the bumble bee and honey bee on white clover (*Trifolium repens* L.) seed production. *Journal of apicultural research*, 46(2), 69-72. <https://doi.org/10.1080/00218839.2007.11101370>

Cecen, S., Gurel, F., & Karaca, A. (2008). Impact of honeybee and bumblebee pollination on alfalfa seed yield. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science*, 58(1), 77-81. <https://doi.org/10.1080/09064710701214627>

Dasgan, H. Y., Ozdogan, A. O., Abak, K., & Kaftanoglu, O. (1997, May). Comparison of honey bees (*Apis mellifera* L.) and bumble bees (*Bombus terrestris*) as pollinators for melon (*Cucumis melo* L.) grown in greenhouses. In I International Symposium on Cucurbits 492 (pp. 131-134). <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1999.492.15>

Dos Santos, S. A., Roselino, A. C., Hrncir, M., & Bego, L. R. (2009). Pollination of tomatoes by the stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). *Genet. Mol. Res*, 8, 751-757. <https://doi.org/10.4238/vol8-2kerr015>

Dusek, K., Duskova, E., & Dolezalova, I. (2011, July). Regeneration and multiplication of maps genetic resources by using technical isolation and controlled pollination. In I International Symposium on Medicinal, Aromatic and Nutraceutical Plants from Mountainous Areas (MAP-Mountain 2011) 955 (pp. 191-196). <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.955.27>

Fulton, M., Jesson, L. K., Bobiwash, K., & Schoen, D. J. (2015). Mitigation of pollen limitation in the lowbush blueberry agroecosystem: effect of augmenting natural pollinators. *Ecosphere*, 6(11), 1-19. <https://doi.org/10.1890/ES15-00148.1>

Haedo, J. P., Martínez, L. C., Graffigna, S., Marrero, H. J., & Torretta, J. P. (2022). Managed and wild bees contribute to alfalfa (*Medicago sativa*) pollination. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 324, 107711. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107711>

Hansted, L., Grout, B. W. W., Toldam-Andersen, T. B., & Eilenberg, J. (2015). Effectiveness of managed populations of wild and honey bees as supplemental pollinators of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) under different climatic conditions. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science*, 65(2), 109-117. <https://doi.org/10.1080/09064710.2014.971051>

He, C., Zhang, K., Han, D., Wang, S., Hou, X., & Zhu, C. (2020). Foraging Behavior of Honeybees (*Apis Mellifera* L.) and Ground Bumblebees (*Bombus Terrestris* L.) and its Influence on Seed Yield and Oil Quality of Oil Tree Peony Cultivar 'Fengdan' (*Paeonia Ostii* T. Hong et JX Zhang). *Journal of Apicultural Science*, 64(1), 131-142. <https://doi.org/10.2478/jas-2020-0014>

Horth, L., & Campbell, L. A. (2018). Supplementing small farms with native mason bees increases strawberry size and growth rate. *Journal of applied ecology*, 55(2), 591-599. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12988>

Jauker, F., Bondarenko, B., Becker, H. C., & Steffan-Dewenter, I. (2012). Pollination efficiency of wild bees and hoverflies provided to oilseed rape. *Agricultural and Forest Entomology*, 14(1), 81-87. <https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2011.00541.x>

Klein, A. M., Vaissiere, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., & Tscharntke, T. (2007). 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>

Koelling, P. D., Kenworthy, W. J., & Caron, D. M. (1981). Pollination of Male-sterile Soybeans in Caged Plots 1. *Crop Science*, 21(4), 559-561. <https://doi.org/10.2135/cropsci1981.0011183X002100040022x>

Ladurner, E., Santi, F., Maccagnani, B., & Maini, S. (2002). Pollination of caged hybrid seed red rape with *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* (Hymenoptera Megachilidae and Apidae). *Bulletin of Insectology*, 55, 9-12.

Lee, K. Y., Yim, S. H., Seo, H. J., Shin, M., & Yoon, H. J. (2017). Pollination Efficiency of Honeybees (*Apis mellifera* L.) and Bumblebees (*Bombus terrestris* L.) in Different Cultivars of Asian Pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Journal of Apiculture*, 32(4), 303-314. <https://doi.org/10.17519/apiculture.2017.11.32.4.303>

Mazzeo, G., Scavo, A., Lo Monaco, A., Longo, S., & Mauromicale, G. (2020). Insect pollinators improve seed production in globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*). *Annals of Applied Biology*, 176(3), 241-248. <https://doi.org/10.1111/aab.12570>

Nayak, R. K., Rana, K., Sharma, H. K., Rana, V. S., & Thakur, M. (2019). Influence of bumble bee pollination on quantitative and qualitative parameters of kiwifruit. *Indian Journal of Horticulture*, 76(2), 294-299. <http://dx.doi.org/10.5958/0974-0112.2019.00045.8>

Pérez-Méndez, N., Andersson, G. K., Requier, F., Hipólito, J., Aizen, M. A., Morales, C. L., ... & Garibaldi, L. A. (2020). The economic cost of losing native pollinator species for orchard production. *Journal of Applied Ecology*, 57(3), 599-608. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13561>

Petersen, J. D., Reiners, S., & Nault, B. A. (2013). Pollination services provided by bees in pumpkin fields supplemented with either *Apis mellifera* or *Bombus impatiens* or not supplemented. *PLoS One*, 8(7), e69819. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069819>

Pinzauti, M., Lazzarini, D., & Felicioli, A. (1996, June). Preliminary investigation of *Osmia cornuta* Latr.(Hymenoptera, Megachilidae) as a potential pollinator for blackberry (*Rubus fruticosus* L.) under confined environment. In VII International Symposium on Pollination 437 (pp. 329-334). <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1997.437.40>

Pitts-Singer, T. L., Artz, D. R., Peterson, S. S., Boyle, N. K., & Wardell, G. I. (2018). Examination of a managed pollinator strategy for almond production using *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) and *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae). *Environmental entomology*, 47(2), 364-377. <https://doi.org/10.1093/ee/nvy009>

Rao, S., & Stephen, W. P. (2009). Bumble bee pollinators in red clover seed production. *Crop Science*, 49(6), 2207-2214. <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.01.0003>

Sadeh, A., Shmida, A., & Keasar, T. (2007). The carpenter bee *Xylocopa pubescens* as an agricultural pollinator in greenhouses. *Apidologie*, 38(6), 508-517. <https://doi.org/10.1051/apido:2007036>

Sapir, G., Baras, Z., Azmon, G., Goldway, M., Shafir, S., Allouche, A., ... & Stern, R. A. (2017). Synergistic effects between bumblebees and honey bees in apple orchards increase cross pollination, seed number and fruit size. *Scientia Horticulturae*, 219, 107-117.

<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.03.010>

Sapir, G., Goldway, M., & Stern, R. A. (2019). Supplementing bumblebees to 'Mauritius' lychee improves yield. *Scientia Horticulturae*, 251, 162-166.

<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.03.015>

Shin, Y. S., Park, S. D., & Kim, J. H. (2007). Influence of pollination methods on fruit development and sugar contents of oriental melon (*Cucumis melo* L. cv. Sagyejeol-Ggul). *Scientia Horticulturae*, 112(4), 388-392. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.01.025>

Smessaert, J., Torfs, J., Honnay, O., & Keulemans, W. (2018, December). Pollination mix: honeybees and bumblebees as possible pollinators for *Pyrus communis*' Conference'. In XIII International Pear Symposium 1303 (pp. 405-414).

<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1303.56>

Stubbs, C. S., & Drummond, F. A. (2001). *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae): an alternative to *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) for lowbush blueberry pollination. *Journal of economic entomology*, 94(3), 609-616. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.3.609>

Sun, Q., Zhao, X., Wu, L., Zhao, J., Yang, Y., & Zhang, Y. (2021). Differences in Pollination Efficiency Among Three Bee Species in a Greenhouse and Their Effects on Yield and Fruit Quality of Northern Highbush 'Bluecrop' Blueberry. *HortScience*, 56(5), 603-607.

<https://doi.org/10.21273/HORTSCI15714-21>

Tepedino, V. J. (1996, June). A comparison of the alfalfa leafcutting bee (*Megachile rotundata*) and the honey bee (*Apis mellifera*) as pollinators for hybrid carrot seed in field cages. In VII International Symposium on Pollination 437 (pp. 457-461).

<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1997.437.62>

Viana, B. F., da Encarnação Coutinho, J. G., Garibaldi, L. A., Bragança Gastagnino, G. L., Peres Gramacho, K., & Oliveira da Silva, F. (2014). Stingless bees further improve apple pollination and production. *Journal of Pollination Ecology*, 14. [https://doi.org/10.26786/1920-7603\(2014\)26](https://doi.org/10.26786/1920-7603(2014)26)

West, T. P., & McCutcheon, T. W. (2009). Evaluating *Osmia cornifrons* as pollinators of highbush blueberry. *International journal of fruit science*, 9(2), 115-125. <https://doi.org/10.1080/15538360902991303>

Wilson, R. L., Abel, C. A., & Luhman, R. L. (1999). Comparing three bee species for controlled pollination of selected Brassicaceae. *Journal of the Iowa Academy of Science: JIAS*, 106(1), 1-3.

Zaitoun, S. T., Al_Ghzawi, A. A., Shannag, H. K., & Al-Tawaha, A. R. M. (2006). Comparative study on the pollination of strawberry by bumble bees and honeybees under plastic house conditions in Jordan valley. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 4(2), 237.

Zhang, H., Huang, J., Williams, P. H., Vaissière, B. E., Zhou, Z., Gai, Q., ... & An, J. (2015). Managed bumblebees outperform honeybees in increasing peach fruit set in China: different limiting processes with different pollinators. *PloS one*, 10(3), e0121143. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121143>

Zisovich, A. H., Goldway, M., Schneider, D., Steinberg, S., Stern, E., & Stern, R. A. (2012). Adding bumblebees (*Bombus terrestris* L., Hymenoptera: Apidae) to pear orchards increases seed number per fruit, fruit set, fruit size and yield. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 87(4), 353-359. <https://doi.org/10.1080/14620316.2012.11512876>

Capítulo 5 – Discusión general

5.1. Síntesis de los principales resultados

El objetivo general de esta tesis es estudiar la interacción de la polinización entomófila con otros factores de los sistemas agrícolas, para profundizar nuestro entendimiento del vínculo entre la polinización y la cantidad, calidad y estabilidad de cultivos dependientes de la polinización animal. Para ello, en primer lugar, se analizó la interacción entre la polinización y el estado nutricional (capítulo 2) y su efecto sobre el rendimiento. Luego, se estudió cómo la variación en el proceso de polinización afecta al rendimiento medio y su estabilidad (capítulo 3). Finalmente, se evaluaron los alcances que puede tener el manejo de la polinización de los cultivos a partir del uso de *Apis mellifera* y polinizadores manejados alternativos (capítulo 4). El resumen de las principales relaciones encontradas puede verse en la Figura 5.1.

Al analizar la interacción entre polinización entomófila y estado nutricional de los árboles de pera y manzana se encontró que estos factores no interactúan entre sí, lo que supone un efecto aditivo de ambos sobre el rendimiento. Además, se halló que los efectos positivos de la polinización entomófila sobre la calidad de la fruta perduran a pesar del raleo químico realizado en el cultivo de manzana. Finalmente, pudo evaluarse que el efecto de la polinización entomófila es más determinante para el rendimiento que el estado nutricional.

Respecto a la estabilidad del rendimiento de cultivos dependientes de la polinización entomófila, pudo comprobarse, a partir del experimento de exclusión de polinizadores, el efecto positivo de la polinización sobre el rendimiento medio y su estabilidad. Por otra parte, pudo revelarse que existe una relación directa entre los niveles medios de polinización y la estabilidad del rendimiento. Además, cuando la polinización es menos estable en el espacio y el tiempo, la estabilidad del rendimiento también disminuye. Esto fue particularmente notorio para el cultivo de pera. Incluso, se sugiere que cuanto mayor es la dependencia de la polinización entomófila, mayor es el aporte de la polinización a la estabilidad del rendimiento.

Finalmente, mediante un meta-análisis, pudo evaluarse el efecto del uso de polinizadores manejados alternativos a *Apis mellifera* (e.g. *Bombus* spp., *Osmia* spp. y otros) sobre la productividad de cultivos dependientes de la polinización, así como posibles interacciones entre ellos. Mientras que no se halló diferencia en la productividad de los cultivos entre aquellos polinizados por *Apis mellifera* u otro polinizador manejado, aquellos estudios en los que se incluyó otro polinizador junto con *Apis mellifera* tuvieron mejores índices de productividad. Incluso, a partir de analizar cómo fue dicha mejora en función de la densidad de colmenas de *Apis mellifera*, pudo inferirse una interacción positiva o sinergia entre *Apis* y otra especie de polinizador manejado.

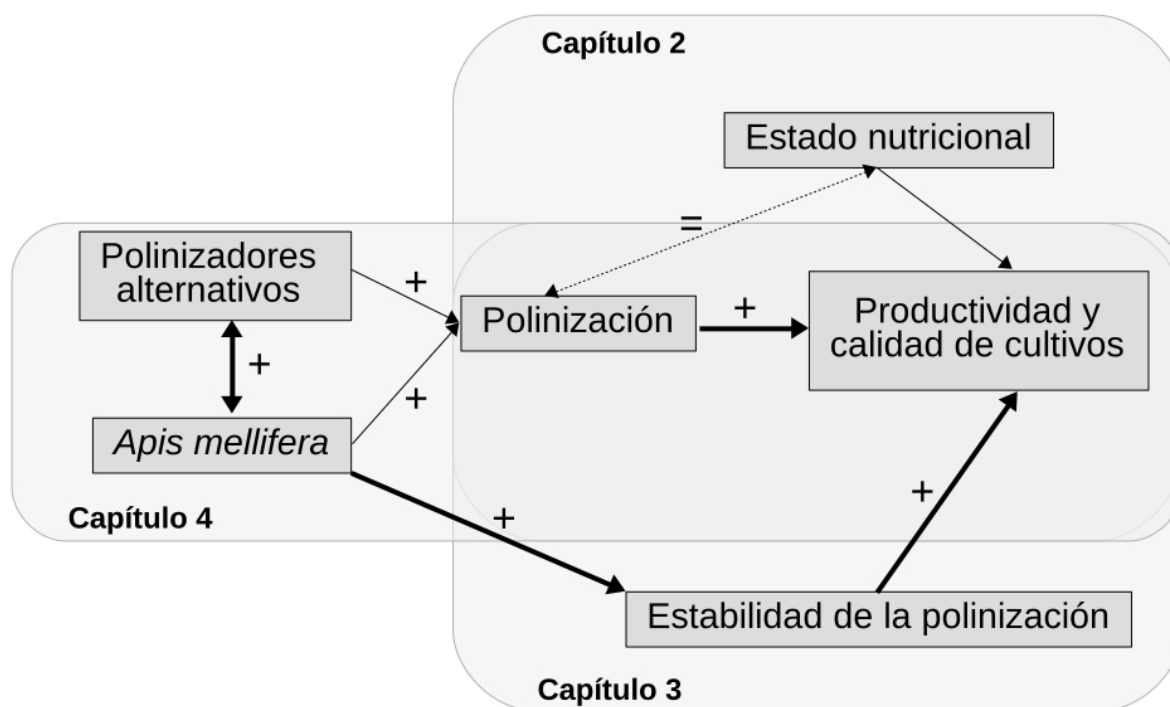


Figura 5.1 – Principales relaciones entre las variables estudiadas. A mayor grosor de las flechas indica mayor intensidad del efecto, mientras que el signo indica el sentido del mismo (i.e. +: positivo, =: ausencia de efecto). Las líneas punteadas son relaciones o interacciones propuestas en la Figura 1.1 (mapa conceptual de la tesis) de las que no se encontró evidencia.

5.2. Implicancias locales

El beneficiario más directo de la aplicación de los resultados de esta tesis es el productor frutícola, tanto por el potencial aumento de su productividad a partir de una optimización de la polinización como, eventualmente, por la reducción de costos de fertilizantes y pesticidas. Esto también traería aparejada una mejora en la salud y condiciones de trabajo de los trabajadores rurales y las familias que viven cerca de las chacras.

La pera es de los cultivos que más temprano florece en la región. Esto implica que la actividad forrajera de la mayoría de los insectos es baja, inclusive la de la abeja de la miel (ver capítulos 2 y 3). Potenciar polinizadores que inicien su actividad a temperaturas más bajas puede entonces mejorar los niveles medios y la estabilidad del rendimiento. En las chacras se observaron,

aunque a una baja densidad, nidos de *Xylocopa* spp. (observación personal). Estas especies suelen presentar filopatria, por lo que cuidar sus nidos y proveer nuevos nidos cerca de los ya establecidos puede ser una alternativa para potenciar sus poblaciones. A su vez, un estudio en la región utilizando colonias del abejorro nativo *Bombus paolensis* encontró que este tiene efectos positivos en el cultivo de manzana (Perez-Mendez et al. 2020). Esta puede ser otra alternativa para mejorar la polinización de la pera, ya que como se ve en el capítulo 4, los polinizadores domesticados interactúan positivamente mejorando el rendimiento.

Respecto del cultivo de manzana, los resultados de esta tesis apuntan un alto nivel de polinización. Esto indica que la polinización brindada por la abeja de la miel es suficiente para garantizar buenos rendimientos. Sin embargo, los resultados que se muestran en el capítulo 3 respecto a la estabilidad del rendimiento sugieren un exceso de visitas por parte de la abeja de la miel. En qué medida este es un fenómeno que ocurre en todas las chacras del Alto Valle de Río Negro y Neuquén o solo en las chacras estudiadas en esta tesis es una pregunta pendiente. Un estudio realizado en la misma región en el año 2016, que abarcó 22 chacras de manzana, encontró mejoras en el rendimiento comparando chacras suplementadas con colmenas de “alta calidad” vs colmenas “convencionales” (Geslin et al. 2017). Esos resultados sugieren que hay chacras en las que la polinización manejada a partir de colmenas de *Apis mellifera* puede ser mejorada.

A su vez, existen una serie de beneficios indirectos que surgen de la aplicación de los resultados de esta tesis. En primer lugar, al ser la polinización, en el caso del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, manejada a partir de *Apis mellifera*, los resultados de esta tesis son un estímulo para incorporar más apicultores al circuito productivo. En segundo lugar, reconocer a la polinización como un factor determinante del rendimiento, tanto en cantidad, como en calidad, tanto para sus niveles medios, como para su estabilidad, implica reconocer que las prácticas de manejo agrícola deben contemplarla. De esta manera, el manejo que debe hacerse requiere promover la salud y diversidad de los polinizadores, lo que implica una mayor demanda de mano de obra (e.g.

acondicionamiento de sitios que promuevan polinizadores, diversificación de cultivos, monitoreo de plagas, control manual de “malezas”). En tercer lugar, se espera que la consideración de los polinizadores tenga un impacto positivo para la apicultura, más allá de la contratación de colmenas para la polinización. Esto es, las prácticas que promueven la salud y diversidad de polinizadores (i.e. menos pesticidas, mayor diversidad floral, etc.) favorecen a la apicultura al brindar mayor cantidad y variedad de recursos florales y disminuir la mortalidad de abejas. Finalmente, las prácticas amigables con los polinizadores se vinculan fuertemente con prácticas amigables con el ambiente en general, lo que impulsa la conservación de la biodiversidad en la región y la salud de sus habitantes.

5.3. Implicancias globales (conceptuales)

En el capítulo 2 fue estudiada la interacción entre el estado nutricional del cultivo y la polinización entomófila, entendiendo a esta última como un recurso más del cultivo. Cómo los recursos limitan el crecimiento vegetal es una pregunta que tiene dos hipótesis principales (Rubio et al. 2003). Por un lado, la hipótesis de la ley del mínimo de Liebig, que sostiene que el crecimiento de una planta está limitado por un único recurso en cualquier momento. Por otro lado, la hipótesis de la limitación múltiple, que propone que, si el crecimiento está limitado por un recurso, la planta debería invertir más esfuerzo en adquirir ese recurso y menos en adquirir otros. De esta manera, se crea un balance en el que el crecimiento está limitado por todos los recursos simultáneamente. Estas dos hipótesis conviven en la fisiología vegetal, ya que se ha encontrado que algunos recursos se regirían por la ley del mínimo de Liebig, mientras que otros lo harían en función de la hipótesis de limitación múltiple (Rubio et al. 2003).

A partir de los resultados del capítulo 2 puede inferirse cómo actúa la polinización entomófila como un recurso. Por definición, una interacción positiva o negativa entre los recursos apoya la hipótesis de la limitación múltiple, dado que la adquisición de un recurso influye la

adquisición del otro. La ausencia de interacción (o efectos aditivos) como fue hallado en el capítulo dos, podría apoyar también esta hipótesis en el caso que ambos recursos igualmente mejoren el rendimiento. Sin embargo, el hecho que el estado nutricional, a lo largo de todo el gradiente relevado, prácticamente no tuvo efecto sobre el rendimiento sugiere que la polinización entomófila puede actuar como único recurso limitante. De esta manera, queda planteada la posibilidad de incrementar el rendimiento de cultivos dependientes de la polinización mediante una mejora de este proceso, más allá de la inversión en fertilizantes o del nivel de fertilidad natural del suelo.

Esta consideración de la polinización entomófila como un recurso agrícola también fue analizada en el capítulo 3. De hecho, las predicciones realizadas allí fueron basadas en la desigualdad de Jensen aplicada al proceso biológico de la polinización (Ruel y Ayres 1999). La desigualdad de Jensen es una propiedad matemática de funciones no lineales. Una implementación en particular aplica para funciones de saturación como la respuesta del rendimiento a un recurso donde predice que, ante iguales valores medios del recurso, el rendimiento será menor cuando el recurso fue más variable (e.g. Figura 3.1). Haber demostrado que el nivel de la tasa de visitas florales (y su variabilidad) se asocian fuertemente con la variabilidad del rendimiento, tal como predice la desigualdad de Jensen, es un dato clave a la hora de considerar a la polinización como un recurso más en los sistemas agrícolas.

En el capítulo 3 se citaron varios estudios que asociaban menor variabilidad espacial y/o temporal del rendimiento con mayor riqueza y/o diversidad de insectos, así como con menor variabilidad de ambas (Kremen et al. 2004, Klein et al. 2009, Garibaldi et al. 2011b, Geeraert et al 2020). Sin embargo, si los patrones observados en esos estudios eran producto de la riqueza de polinizadores o simplemente de la abundancia agregada de éstos era una pregunta abierta (Klein 2009). Los resultados consignados en el capítulo 3 muestran que la estabilidad en las visitas realizadas por una sola especie genera rendimientos más estables. Así, puede inferirse que el mecanismo subyacente a las asociaciones arriba mencionadas es que la mayor riqueza y/o

abundancia de insectos proveen a las flores de esos cultivos mayores visitas y más estables, explicando así las mejoras en el rendimiento medio y su estabilidad. En línea con estos resultados se encuentran aquellos desarrollados en el capítulo 4. Mientras que el efecto sobre la productividad agrícola de la abeja melífera no difiere del de la mayoría de polinizadores manejados alternativos, el efecto positivo al incorporar otro polinizador domesticado junto con *Apis* es contundente.

5.4. Limitaciones y perspectivas

Más allá de los avances realizados, es importante considerar las limitaciones de cada una de las investigaciones aquí desarrolladas, de manera de evitar conclusiones erróneas, así como también revelar perspectivas de investigaciones futuras.

La primera limitación que puede plantearse refiere al uso de indicadores o estimadores en lugar de la medición de la variable real, en particular de las variables predictivas consideradas en los capítulos 2 y 3 (i.e. polinización, estado nutricional). La polinización, tal como fue definida en el capítulo 1 de esta tesis, consiste en la transferencia de polen de las anteras hacia el estigma, y tiene como componentes la cantidad de polen y su calidad. La cantidad podría medirse como número de granos de polen que arriban al estigma y la calidad como número de tubos polínicos que se desarrollan. Sin embargo, al considerar el número de visitas, se introduce una componente de error (por ejemplo, muchas visitas podrían ser consideradas como buena polinización, pero si el polen que depositan es de mala calidad, entonces dicha consideración está equivocada). De igual forma, el estado nutricional fue aproximado mediante el nivel de SPAD y a partir de este la concentración de nitrógeno en hojas. Esto supone que es el nitrógeno quien actuaría como recurso limitante, por lo que las conclusiones de dicho capítulo deberían restringirse al efecto de este nutriente en particular.

A la hora de considerar el rendimiento, si bien desde el punto de vista del productor el número de frutos y su peso o tamaño es importante; características como el valor nutricional de la

fruta no fueron tenidas en cuenta. Esto podría ser relevante, dado que la contribución nutricional de los cultivos dependientes de la polinización entomófila, en términos de proteínas, vitaminas y minerales, puede ser mucho más importante para la dieta que lo que la masa total de producción sugiere (Steffan-Dewenter et al. 2005).

No obstante, el hecho de haber realizado las mediciones en condiciones reales de cultivo es útil en la medida en la que puede observarse lo que sucede realmente en las chacras, pero condiciona los alcances de las conclusiones. Por ejemplo, si bien se encontró un rango importante en la nutrición de los árboles de pera y manzana, los extremos (i.e. plantas desnutridas y sobrefertilizadas) no pudieron evaluarse. En este sentido, serían útiles estudios experimentales que consideraran la cantidad de nutrientes y de polen que recibe cada planta para evaluar su interacción, a lo largo de sendos gradientes de estado nutricional y polinización. Aquí también es importante destacar que no se realizaron exclusiones a escala de individuo, por lo que no puede asumirse que lo observado a escala de sección de rama o inflorescencia puede extrapolarse a todo el individuo, dado que la relocalización de recursos de aquellos sitios excluidos de las visitas de los polinizadores hacia otros que sí tengan flores polinizadas es común (Stephenson 1981, Knight et al. 2006, Bos et al. 2007, Strelin y Aizen 2018).

Finalmente, la ausencia de polinizadores silvestres en las chacras estudiadas es notoria. Si esta ausencia se debe al uso intensivo de agroquímicos o a una falta natural de polinizadores silvestres en esta región es una pregunta abierta. Un indicio de que se debe a lo primero lo dan estudios realizados en esta región, que relevaron ensambles diversos de polinizadores (Tadey 2015, 2016). Por lo tanto, investigar las causas de la carencia de polinizadores silvestres en las chacras, así como posibles manejos para desarrollar poblaciones de los mismos es de vital importancia para el mantenimiento de la fruticultura en la región.

5.5. Conclusión

En esta tesis, fueron evaluados distintos aspectos relativos a la polinización entomófila y el rendimiento de cultivos dependientes de la polinización entomófila. Dichas evaluaciones revelaron a la polinización como un factor fundamental que mejora la productividad de los cultivos dependientes de la polinización, tanto en niveles absolutos como en la estabilidad de la misma. Mientras que la polinización normalmente es considerada como un proceso regulatorio en los ecosistemas, a partir de los análisis desarrollados aquí puede verse que en agroecosistemas la polinización entomófila debe concebirse no solo como un recurso agrícola más, sino además como un recurso clave de la producción.

Bibliografía

Abrol, D. P. (2012). Pollination in Cages. In *Pollination biology: biodiversity conservation and agricultural production* (pp. 353–395). New York: Springer. https://www.doi.org/10.1007/978-94-007-1942-2_11

Agüero, J.I., Pérez-Méndez, N., Torretta, J.P. y Garibaldi, L.A. 2020. Impact of invasive bees on plant-pollinator interactions and reproductive success of plant species in mixed *Nothofagus antarctica* forests. *Neotropical Entomology*, 49(4): 557-567. <https://doi.org/10.1007/s13744-020-00787-6>

Aizen, M. A., Garibaldi, L. A., Cunningham, S. A., and Klein, A. M. (2008). Long-term global trends in crop yield and production reveal no current pollination shortage but increasing pollinator dependency. *Current biology*, 18(20), 1572-1575. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.08.066>

Aizen, M. A., Garibaldi, L. A., Cunningham, S. A., and Klein, A. M. (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, M. A., Aguiar, S., Biesmeijer, J. C., Garibaldi, L. A., Inouye, D. W., Jung, C., ... & Seymour, C. L. (2019a). Global agricultural productivity is threatened by increasing pollinator dependence without a parallel increase in crop diversification. *Global Change Biology*, 25(10), 3516-3527. <https://doi.org/10.1111/gcb.14736>

Aizen, M. A., Smith-Ramírez, C., Morales, C. L., Vieli, L., Sáez, A., Barahona-Segovia, R. M., ... & Harder, L. D. (2019b). Coordinated species importation policies are needed to reduce serious invasions globally: The case of alien bumblebees in South America. *Journal of Applied Ecology*, 56(1), 100-106. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13121>

Aizen, M. A., & Harder, L. D. (2007). Expanding the limits of the pollen-limitation concept: effects of pollen quantity and quality. *Ecology*, 88(2), 271-281. <https://doi.org/10.1890/06-1017>

Aizen, M. A., & Harder, L. D. (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>

Arbetman, M.P., Meeus, I., Morales, C.L. et al. Alien parasite hitchhikes to Patagonia on invasive bumblebee. *Biol Invasions* 15, 489–494 (2013). <https://doi.org/10.1007/s10530-012-0311-0>

Ashman, T. L., Knight, T. M., Steets, J. A., Amarasekare, P., Burd, M., Campbell, D. R., ... & Wilson, W. G. (2004). Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology*, 85(9), 2408-2421. <https://doi.org/10.1890/03-8024>

Avellá, B., Landriscini, S. G., and Preiss, O. (2018). Complejo frutícola de Río Negro y Neuquén. Exportaciones, principales competidores y factores que condicionan la competitividad. *Revista Interdisciplinaria de Estudios Agrarios*, 48, 93-126.

Bartomeus, I., Gagic, V., & Bommarco, R. (2015). Pollinators, pests and soil properties interactively shape oilseed rape yield. *Basic and Applied Ecology*, 16(8), 737-745. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2015.07.004>

Barton K (2018). MuMIn: Multi-Model Inference. R package version 1.40.4. <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>

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

Biesmeijer, J. C., Roberts, S. P., Reemer, M., Ohlemüller, R., Edwards, M., Peeters, T., ... & Kunin, W. E. (2006). Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science*, 313(5785), 351-354. <https://doi.org/10.1126/science.1127863>

Blüthgen, N., and Klein, A. M. (2011). Functional complementarity and specialisation: the role of biodiversity in plant–pollinator interactions. *Basic and Applied Ecology*, 12(4), 282-291.

<https://doi.org/10.1098/rspb.2012.2767>

Boreux, V., Kushalappa, C. G., Vaast, P., & Ghazoul, J. (2013). Interactive effects among ecosystem services and management practices on crop production: pollination in coffee agroforestry systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(21), 8387-8392.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1210590110>

Borges, R. C., Brito, R. M., Imperatriz-Fonseca, V. L., & Giannini, T. C. (2020). The value of crop production and pollination services in the eastern Amazon. *Neotropical Entomology*, 49(4), 545-556. <https://doi.org/10.1007/s13744-020-00791-w>

Bos, M. M., Veddeler, D., Bogdanski, A. K., Klein, A. M., Tschardt, T., Steffan-Dewenter, I., & Tylianakis, J. M. (2007). Caveats to quantifying ecosystem services: fruit abortion blurs benefits from crop pollination. *Ecological Applications*, 17(6), 1841-1849.

<https://doi.org/10.1890/06-1763.1>

Brittain, C., Williams, N., Kremen, C. & Klein, A.-M. (2013) Synergistic effects of non-Apis bees and honey bees for pollination services. *Proceedings of the Royal Society, Series B*, 280, 20122767. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2010.11.001>

Brown, A. O., & McNeil, J. N. (2006). Fruit production in cranberry (Ericaceae: *Vaccinium macrocarpon*): A bet-hedging strategy to optimize reproductive effort. *American Journal of Botany*, 93(6), 910-916. <https://doi.org/10.3732/ajb.93.6.910>

Brummer, E. C. (1998). Diversity, stability, and sustainable American agriculture. *Agronomy Journal*, 90(1), 1-2. <https://doi.org/10.2134/agronj1998.00021962009000010001x>

Burd, M. (1994). Bateman's principle and plant reproduction: the role of pollen limitation in fruit and seed set. *The Botanical Review*, 60(1), 83-139. <https://doi.org/10.1007/BF02856594>

Burd, M. (1998). "Excess" flower production and selective fruit abortion: a model of potential benefits. *Ecology*, 79(6), 2123-2132. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(1998\)079\[2123:EFPA SF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1998)079[2123:EFPA SF]2.0.CO;2)

Burnham, K. P., Anderson, D. R., & Huyvaert, K. P. (2011). AIC model selection and multimodel inference in behavioral ecology: some background, observations, and comparisons. *Behavioral ecology and sociobiology*, 65(1), 23-35. <https://doi.org/10.1007/s00265-010-1029-6>

Cabrera, A.L. and Willink, A. (1973). Biogeografía de América Latina. Organización de Estados Americanos, Washington DC, USA.

Cavigliasso, P., Bello, F., Rivadeneira, M. F., Monzon, N. O., Gennari, G. B., & Basualdo, M. (2020). Pollination efficiency of managed bee species (*Apis mellifera* and *Bombus pauloensis*) in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) productivity. *J. Hortic. Res*, 28(1), 57-64. <https://doi.org/10.2478/johr-2020-0003>

Colla, S. R., Otterstatter, M. C., Gegear, R. J., & Thomson, J. D. (2006). Plight of the bumble bee: pathogen spillover from commercial to wild populations. *Biological conservation*, 129(4), 461-467. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.11.013>

Cunningham, S. A., & Le Feuvre, D. (2013). Significant yield benefits from honeybee pollination of faba bean (*Vicia faba*) assessed at field scale. *Field Crops Research*, 149, 269-275. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.05.019>

Cunningham, S. A., Fournier, A., Neave, M. J., & Le Feuvre, D. (2016). Improving spatial arrangement of honeybee colonies to avoid pollination shortfall and depressed fruit set. *Journal of Applied Ecology*, 53(2), 350-359. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12573>

Dag, A. (2008). Bee pollination of crop plants under environmental conditions unique to enclosures. *Journal of apicultural research*, 47(2), 162-165. <https://doi.org/10.1080/00218839.2008.11101444>

Dag, A., Stern, R. A., & Shafir, S. (2005). Honey bee (*Apis mellifera*) strains differ in apple (*Malus domestica*) pollen foraging preference. *Journal of apicultural research*, 44(1), 15-20. <https://doi.org/10.1080/00218839.2005.11101140>

Dainese, M., Martin, E.A., Aizen, M.A., Albrecht, M., ..., Steffan-Dewenter, I., 2019. A global synthesis reveals biodiversity-mediated benefits for crop production. *Science Advances* 5, eaax0121. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax0121>

Dar, M. A., Wani, J. A., Raina, S. K., Bhat, M. Y., & Malik, M. A. (2015). Relationship of leaf nutrient content with fruit yield and quality of pear. *Journal of Environmental Biology*, 36(3), 649.

De Palma, A., Abrahamczyk, S., Aizen, M. A., Albrecht, M., Basset, Y., Bates, A., ... & Purvis, A. (2016). Predicting bee community responses to land-use changes: Effects of geographic and taxonomic biases. *Scientific Reports*, 6(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/srep31153>

Deguines, N., Jono, C., Baude, M., Henry, M., Julliard, R., and Fontaine, C. (2014). Large-scale trade-off between agricultural intensification and crop pollination services. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 12(4), 212-217. <https://doi.org/10.1890/130054>

Díaz, P. C., Arenas, A., Fernández, V. M., Susic Martin, C., Basilio, A. M., and Farina, W. M. (2013). Honeybee cognitive ecology in a fluctuating agricultural setting of apple and pear trees. *Behavioral Ecology*, 24(5), 1058-1067. <https://doi.org/10.1093/beheco/art026>

Dris, R., Niskanen, R., & Fallahi, E. (1999). Relationships between leaf and fruit minerals and fruit quality attributes of apples grown under northern conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 22(12), 1839-1851. <https://doi.org/10.1080/01904169909365760>

Eeraerts, M., Vanderhaegen, R., Smagghe, G., & Meeus, I. (2020). Pollination efficiency and foraging behaviour of honey bees and non-*Apis* bees to sweet cherry. *Agricultural and Forest Entomology*, 22(1), 75-82. <https://doi.org/10.1111/afe.12363>

Ellis, J. (2012). The honey bee crisis. *Outlooks on Pest Management*, 23(1), 35-40.

<https://doi.org/10.1564/22feb10>

Ellis, C. R., Feltham, H., Park, K., Hanley, N., & Goulson, D. (2017). Seasonal complementary in pollinators of soft-fruit crops. *Basic and Applied Ecology*, 19, 45-55.

<https://doi.org/10.1016/j.baae.2016.11.007>

Fallahi, E. (2012). Influence of rootstock and irrigation methods on water use, mineral nutrition, growth, fruit yield, and quality in ‘Gala’ apple. *HortTechnology*, 22(6), 731-737.

<https://doi.org/10.21273/HORTTECH.22.6.731>

Farkas, A., and Orosz-Kovács, Z. (2003). Nectar secretion dynamics of Hungarian local pear cultivars. *Plant systematics and evolution*, 238(1-4), 57-67. [https://doi.org/10.1007/s00606-003-](https://doi.org/10.1007/s00606-003-0268-7)

[0268-7](https://doi.org/10.1007/s00606-003-0268-7)

Foley, J. A., DeFries, R., Asner, G. P., Barford, C., Bonan, G., Carpenter, S. R., ... and Helkowski, J. H. (2005). Global consequences of land use. *Science*, 309(5734), 570-574.

<https://doi.org/10.1126/science.1111772>

Fox & Weisberg (2011). *An {R} Companion to Applied Regression*, Second Edition.

Thousand

Oaks CA: Sage. URL: <http://socserv.socsci.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion>

Free, J. B. (1970). Insect pollination of crops. *Insect pollination of crops*.

Free, J. B., & Williams, I. H. (1974). Influence of the location of honeybee colonies on their choice of pollen sources. *Journal of Applied Ecology*, 925-935. <https://doi.org/10.2307/2401754>

Fulton, M., Jesson, L. K., Bobiwash, K., & Schoen, D. J. (2015). Mitigation of pollen limitation in the lowbush blueberry agroecosystem: effect of augmenting natural pollinators.

Ecosphere, 6(11), 1-19. <https://doi.org/10.1890/ES15-00148.1>

Gallai, N., Salles, J. M., Settele, J., & Vaissière, B. E. (2009). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological economics*, 68(3), 810-821. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2008.06.014>

Garibaldi, L. A., Aizen, M. A., Klein, A. M., Cunningham, S. A., and Harder, L. D. (2011a). Global growth and stability of agricultural yield decrease with pollinator dependence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(14), 5909-5914. <https://doi.org/10.1073/pnas.1012431108>

Garibaldi, L. A., Steffan-Dewenter, I., Kremen, C., Morales, J. M., Bommarco, R., Cunningham, S. A., ... and Holzschuh, A. (2011b). Stability of pollination services decreases with isolation from natural areas despite honey bee visits. *Ecology letters*, 14(10), 1062-1072. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01669.x>

Garibaldi, L. A., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M. A., Bommarco, R., Cunningham, S. A., ... & Klein, A. M. (2013). Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honeybee abundance. *Science*, 339(6127), 1608-1611. <https://doi.org/10.1126/science.1230200>

Garibaldi, L. A., Andersson, G. K., Requier, F., Fijen, T. P., Hipólito, J., Kleijn, D., ... & Rollin, O. (2018). Complementarity and synergisms among ecosystem services supporting crop yield. *Global food security*, 17, 38-47. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2018.03.006>

Garibaldi, L. A., Sáez, A., Aizen, M. A., Fijen, T., & Bartomeus, I. (2020). Crop pollination management needs flower-visitor monitoring and target values. *Journal of Applied Ecology*, 57(4), 664-670. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13574>

Garratt, M. P., Breeze, T. D., Jenner, N., Polce, C., Biesmeijer, J. C., & Potts, S. G. (2014). Avoiding a bad apple: Insect pollination enhances fruit quality and economic value. *Agriculture, ecosystems & environment*, 184, 34-40. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.10.032>

Garratt, M. P. D., Brown, R., Hartfield, C., Hart, A., & Potts, S. G. (2018). Integrated crop pollination to buffer spatial and temporal variability in pollinator activity. *Basic and Applied Ecology*. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2018.06.005>

Geeraert, L., Aerts, R., Berecha, G., Daba, G., De Fruyt, N., D'hollander, J., ... and Honnay, O. (2020). Effects of landscape composition on bee communities and coffee pollination in *Coffea arabica* production forests in southwestern Ethiopia. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 288, 106706. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.106706>

Geslin, B., Aizen, M. A., Garcia, N., Pereira, A. J., Vaissière, B. E., and Garibaldi, L. A. (2017). The impact of honey bee colony quality on crop yield and farmers' profit in apples and pears. *Agriculture, ecosystems and environment*, 248, 153-161. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.07.035>

Ghazoul, J. (2005). Buzziness as usual? Questioning the global pollination crisis. *Trends in ecology & evolution*, 20(7), 367-373. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.04.026>

Ghazoul, J. (2007). Recognising the complexities of ecosystem management and the ecosystem service concept. *Gaia-Ecological Perspectives for Science and Society*, 16(3), 215-221. <https://doi.org/10.14512/gaia.16.3.13>

Giannini, T. C., Costa, W. F., Borges, R. C., Miranda, L., da Costa, C. P. W., Saraiva, A. M., & Fonseca, V. L. I. (2020). Climate change in the Eastern Amazon: crop-pollinator and occurrence-restricted bees are potentially more affected. *Regional Environmental Change*, 20(1), 9. <https://doi.org/10.1007/s10113-020-01611-y>

González-Varo, J. P., Biesmeijer, J. C., Bommarco, R., Potts, S. G., Schweiger, O., Smith, H. G., ... & Vilà, M. (2013). Combined effects of global change pressures on animal-mediated pollination. *Trends in ecology & evolution*, 28(9), 524-530. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2013.05.008>

González-Varo, J. P., & Vilà, M. (2017). Spillover of managed honeybees from mass-flowering crops into natural habitats. *Biological Conservation*, 212, 376-382.

<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.06.018>

Goulson, D., Lepais, O., O'connor, S., Osborne, J. L., Sanderson, R. A., Cussans, J., ... & Darvill, B. (2010). Effects of land use at a landscape scale on bumblebee nest density and survival. *Journal of Applied Ecology*, 47(6), 1207-1215. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2010.01872.x>

Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C., & Rotheray, E. L. (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, 347(6229), 1255957. <https://doi.org/10.1126/science.1255957>

Grass, I., Meyer, S., Taylor, P. J., Foord, S. H., Hajek, P., & Tschamntke, T. (2018). Pollination limitation despite managed honeybees in South African macadamia orchards. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 260, 11-18. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.03.010>

Groeneveld, J. H., Tschamntke, T., Moser, G., & Clough, Y. (2010). Experimental evidence for stronger cacao yield limitation by pollination than by plant resources. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 12(3), 183-191. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2010.02.005>

Hoehn, P., Tschamntke, T., Tylianakis, J. M., and Steffan-Dewenter, I. (2008). Functional group diversity of bee pollinators increases crop yield. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1648), 2283-2291. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.0405>

Hoying, S., Fargione, M., & Iungerman, K. (2004). Diagnosing apple tree nutritional status: leaf analysis interpretation and deficiency symptoms. *New York Fruit Quarterly*, 12(11), 16-19.

Hünicken, P. L., Morales, C. L., García, N., and Garibaldi, L. A. (2020). Insect Pollination, More than Plant Nutrition, Determines Yield Quantity and Quality in Apple and Pear. *Neotropical Entomology*, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s13744-020-00763-0>.

Jackson, J.E., 2003. The Biology of Apples and Pears. Cambridge University Press, Cambridge, pp 268-317. www.cambridge.org/9780521380188

Junqueira, C. N., Pereira, R. A. S., da Silva, R. C., Alves Cardoso Kobal, R. O., Araújo, T. N., Prato, A., ... & Augusto, S. C. (2021). Do Apis and non-Apis bees provide a similar contribution to crop production with different levels of pollination dependency? A review using meta-analysis. *Ecological Entomology*. <https://doi.org/10.1111/een.13092>

Kearns, C. A., Inouye, D. W., & Waser, N. M. (1998). Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions. *Annual review of ecology and systematics*, 29(1), 83-112. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.83>

Kennedy, C. M., Lonsdorf, E., Neel, M. C., Williams, N. M., Ricketts, T. H., Winfree, R., ... & Kremen, C. (2013). A global quantitative synthesis of local and landscape effects on wild bee pollinators in agroecosystems. *Ecology letters*, 16(5), 584-599. <https://doi.org/10.1111/ele.12082>

King, C., Ballantyne, G., & Willmer, P. G. (2013). Why flower visitation is a poor proxy for pollination: measuring single-visit pollen deposition, with implications for pollination networks and conservation. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(9), 811-818. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12074>

Klein, A. M. (2009). Nearby rainforest promotes coffee pollination by increasing spatio-temporal stability in bee species richness. *Forest Ecology and Management*, 258(9), 1838-1845. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.05.005>

Klein, A. M., Vaissiere, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., and Tscharntke, T. (2007). 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>

Klein, A. M., Müller, C., Hoehn, P., & Kremen, C. (2009). Understanding the role of species richness for crop pollination services. *Biodiversity, ecosystem function and human wellbeing*. New York, 195-208.

Klein, A. M., Hendrix, S. D., Clough, Y., Scofield, A., & Kremen, C. (2015). Interacting effects of pollination, water and nutrients on fruit tree performance. *Plant biology*, 17(1), 201-208. <https://doi.org/10.1111/plb.12180>

Knight, T. M., Steets, J. A., Vamosi, J. C., Mazer, S. J., Burd, M., Campbell, D. R., ... & Ashman, T. L. (2005). Pollen limitation of plant reproduction: pattern and process. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 36, 467-497. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.36.102403.115320>

Knight, T. M., Steets, J. A., & Ashman, T. L. (2006). A quantitative synthesis of pollen supplementation experiments highlights the contribution of resource reallocation to estimates of pollen limitation. *American Journal of Botany*, 93(2), 271-277. <https://doi.org/10.3732/ajb.93.2.271>

Krebs, J. R., Wilson, J. D., Bradbury, R. B., and Siriwardena, G. M. (1999). The second silent spring?. *Nature*, 400(6745), 611-612. <https://doi.org/10.1038/23127>

Kremen, C., Williams, N. M., & Thorp, R. W. (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>

Kremen, C., Williams, N. M., Bugg, R. L., Fay, J. P., and Thorp, R. W. (2004). The area requirements of an ecosystem service: crop pollination by native bee communities in California. *Ecology letters*, 7(11), 1109-1119. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00662.x>

Losada, J. M., & Herrero, M. (2013). Flower strategy and stigma performance in the apple inflorescence. *Scientia Horticulturae*, 150, 283-289. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.11.031>

Maccagnani, B., Ladurner, E., Santi, F., and Burgio, G. (2003). *Osmia cornuta* (Hymenoptera, Megachilidae) as a pollinator of pear (*Pyrus communis*): fruit-and seed-set. *Apidologie*, 34(3), 207-216. <https://doi.org/10.1051/apido:2003009>

Maccagnani, B., Burgio, G., Stanisavljevic, L. Z., and Maini, S. (2007). *Osmia cornuta* management in pear orchards. *Bulletin of Insectology*, 60(1), 77. <https://bit.ly/3our7D7>

MacInnis, G., & Forrest, J. R. (2019). Pollination by wild bees yields larger strawberries than pollination by honeybees. *Journal of Applied Ecology*, 56(4), 824-832.

<https://doi.org/10.1111/1365-2664.13344>

Marini, L., Tamburini, G., Petrucco-Toffolo, E., Lindström, S. A., Zanetti, F., Mosca, G., & Bommarco, R. (2015). Crop management modifies the benefits of insect pollination in oilseed rape. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 207, 61-66. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.03.027>

Matson, P. A., Parton, W. J., Power, A. G., & Swift, M. J. (1997). Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science*, 277(5325), 504-509.

<https://doi.org/10.1126/science.277.5325.504>

McGuire, FAO, IFAD, and WFP. *The State of Food Insecurity in the World 2015: Meeting the 2015 International Hunger Targets: Taking Stock of Uneven Progress*. Rome: FAO, 2015, *Advances in Nutrition*, Volume 6, Issue 5, September 2015, Pages 623–624,

<https://doi.org/10.3945/an.115.009936>.

Morales, Carolina L; Arbetman, Marina P; Cameron, Sydney A; Aizen, Marcelo A (2013). Rapid ecological replacement of a native bumble bee by invasive species. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11(10), 529–534. <https://doi.org/10.1890/120321>

Munoz, A. A., Celedon-Neghme, C., Cavieres, L. A., & Arroyo, M. T. (2005). Bottom-up effects of nutrient availability on flower production, pollinator visitation, and seed output in a high-Andean shrub. *Oecologia*, 143(1), 126-135. <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1780-3>

Na, W., Wolf, J., & ZHANG, F. S. (2016). Towards sustainable intensification of apple production in China—Yield gaps and nutrient use efficiency in apple farming systems. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(4), 716-725. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(15\)61099-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61099-1)

Ne'eman, Gidi, et al. "A framework for comparing pollinator performance: effectiveness and efficiency." *Biological Reviews* 85.3 (2010): 435-451. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2009.00108.x>

[185X.2009.00108.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2009.00108.x)

Neilsen, D., Hogue, E. J., Neilsen, G. H., & Parchomchuk, P. (1995). Using SPAD-502 values to assess the nitrogen status of apple trees. *HortScience*, 30(3), 508-512.

<https://doi.org/10.21273/HORTSCI.30.3.508>

Neilsen GH, Neilsen D, Ferree DC & Warrington IJ (2003). Nutritional requirements of apple. In: Ferree DC, Warrington IJ, eds., Apples: Botany, Production and Uses. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK. pp. 267–302.

Neto, C. B., Carranca, C., Clemente, J., & de Varennes, A. (2011). Assessing the nitrogen nutritional status of young non-bearing ‘rocha’ pear trees grown in a mediterranean region by using a chlorophyll meter. *Journal of plant nutrition*, 34(5), 627-639.

<https://doi.org/10.1080/01904167.2011.540620>

Niesenbaum, R. A. (1993). Light or pollen--seasonal limitations on female reproductive success in the understory shrub *Lindera benzoin*. *Journal of Ecology*, 315-323.

<https://doi.org/10.2307/2261501>

Ollerton, J., Winfree, R., & Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals?. *Oikos*, 120(3), 321-326. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x>

Olsen, Kenneth M. "Pollination effectiveness and pollinator importance in a population of *Heterotheca subaxillaris* (Asteraceae)." *Oecologia* 109.1 (1996): 114-121.

<https://doi.org/10.1007/PL00008811>

Osterman, J., Aizen, M. A., Biesmeijer, J. C., Bosch, J., Howlett, B. G., Inouye, D. W., ... & Paxton, R. J. (2021). Global trends in the number and diversity of managed pollinator species. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 322, 107653. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107653>

Page, M. L., Nicholson, C. C., Brennan, R. M., Britzman, A. T., Greer, J., Hemberger, J., ... & Williams, N. M. (2021). A meta-analysis of single visit pollination effectiveness comparing honeybees and other floral visitors. *American journal of botany*, 108(11), 2196-2207.

<https://doi.org/10.1002/ajb2.1764>

- Paudel, Y. P., Mackereth, R., Hanley, R., & Qin, W. (2015). honeybees (*Apis mellifera* L.) and pollination issues: Current status, impacts, and potential drivers of decline. *Journal of Agricultural Science*, 7(6), 93. <https://doi.org/10.5539/jas.v7n6p93>
- Pérez-Méndez, N., Andersson, G. K., Requier, F., Hipólito, J., Aizen, M. A., Morales, C. L., ... and Garibaldi, L. A. (2020). The economic cost of losing native pollinator species for orchard production. *Journal of Applied Ecology*, 57(3), 599-608. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13561>.
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D and R Core Team (2016). *_nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models_*. R package version 3.1-124, URL: <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>
- Pinstrup-Andersen, P. (2009). Food security: definition and measurement. *Food security*, 1(1), 5-7. <https://doi.org/10.1007/s12571-008-0002-y>.
- Porro, D., Dorigatti, C., Stefanini, M. & Ceschini, A. (2000). Use of SPAD meter in diagnosis of nutritional status in apple and grapevine. In *IV International Symposium on Mineral Nutrition of Deciduous Fruit Crops* 564 (pp. 243-252). <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2001.564.28>
- Potts, S. G., Biesmeijer, J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., & Kunin, W. E. (2010a). 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>
- Potts, S. G., Roberts, S. P., Dean, R., Marris, G., Brown, M. A., Jones, R., ... & Settele, J. (2010b). Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. *Journal of apicultural research*, 49(1), 15-22. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.49.1.02>
- Potts, S. G., Imperatriz-Fonseca, V., Ngo, H. T., Aizen, M. A., Biesmeijer, J. C., Breeze, T. D., ... & Vanbergen, A. J. (2016). Safeguarding pollinators and their values to human well-being. *Nature*, 540(7632), 220-229. <https://doi.org/10.1038/nature20588>

Pinzauti, M., Lazzarini, D., & Felicioli, A. (1996, June). Preliminary investigation of *Osmia cornuta* Latr.(Hymenoptera, Megachilidae) as a potential pollinator for blackberry (*Rubus fruticosus* L.) under confined environment. In *VII International Symposium on Pollination* 437 (pp. 329-334). <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1997.437.40>

R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

Ramírez, F., and Davenport, T. L. (2013). Apple pollination: a review. *Scientia Horticulturae*, 162, 188-203. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.08.007>

Requier, F., Antúnez, K., Morales, C.L., Sánchez, P.A., Castilhos, D., Garrido, P.M., Giacobino, A., Reynaldi, F.J., Londoño, J.M.R., Santos, E., Garibaldi, L.A., 2018. Trends in beekeeping and honey bee colony losses in Latin America. *Journal of Apicultural Research* 57, 657–662. <https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1494919>

Rubio G, Zhu J, Lynch JP (2003) A critical test of the two prevailing theories of plant response to nutrient availability. *Am J Bot* 90:143–152. <https://doi.org/10.3732/ajb.90.1.143>

Rucker, R. R., Thurman, W. N., & Burgett, M. (2012). Honey bee pollination markets and the internalization of reciprocal benefits. *American Journal of Agricultural Economics*, 94(4), 956-977. <https://doi.org/10.1093/ajae/aas031>

Ruel, J. J., and Ayres, M. P. (1999). Jensen's inequality predicts effects of environmental variation. *Trends in Ecology and Evolution*, 14(9), 361-366. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01664-X](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01664-X)

Smessaert, J., Torfs, J., Honnay, O., & Keulemans, W. (2018, December). Pollination mix: honeybees and bumblebees as possible pollinators for *Pyrus communis*' Conference'. In *XIII International Pear Symposium 1303* (pp. 405-414).

<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1303.56>

Steffan-Dewenter, I., Potts, S. G., & Packer, L. (2005). Pollinator diversity and crop pollination services are at risk. *Trends in ecology & evolution*, 20(12), 651-652.

<https://www.doi.org/10.1016/j.tree.2005.09.004>

Stephenson, A. G. (1981). Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual review of ecology and systematics*, 12(1), 253-279.

<https://doi.org/10.1146/annurev.es.12.110181.001345>

Strelin, M. M., & Aizen, M. A. (2018). The interplay between ovule number, pollination and resources as determinants of seed set in a modular plant. *PeerJ*, 6, e5384.

<https://doi.org/10.7717/peerj.5384>

Tadey, M. (2015). Indirect effects of grazing intensity on pollinators and floral visitation. *Ecological Entomology*, 40(4), 451-460. <https://doi.org/10.1111/een.12209>

Tadey, M. (2016). Variation in insect assemblage and functional groups along a grazing gradient in an arid environment. <http://dx.doi.org/10.4172/2161-0983.1000179>

Ugalde y García-Sartor 2014

Tamburini, G., Berti, A., Morari, F., & Marini, L. (2016). Degradation of soil fertility can cancel pollination benefits in sunflower. *Oecologia*, 180(2), 581-587.

<https://doi.org/10.1007/s00442-015-3493-1>

Tamburini, G., Lami, F., & Marini, L. (2017). Pollination benefits are maximized at intermediate nutrient levels. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1860), 20170729. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0729>

Tilman, D. (1999). Global environmental impacts of agricultural expansion: the need for sustainable and efficient practices. *Proceedings of the national Academy of Sciences*, 96(11), 5995-6000. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.11.5995>

Tilman, D., Cassman, K. G., Matson, P. A., Naylor, R., & Polasky, S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418(6898), 671-677. <https://doi.org/10.1038/nature01014>

Ugalde, D.F & García-Sartor, C.E. (2014) Propuesta de abordaje del problema de calidad en pomáceas en la Patagonia norte asociado a fallas en la polinización desde la mirada conceptual del sistema nacional de innovación. *Campo & Abejas* 95: 12-17.

VanEngelsdorp, D., Hayes Jr, J., Underwood, R. M., & Pettis, J. (2008). A survey of honeybee colony losses in the US, fall 2007 to spring 2008. *PloS one*, 3(12), e4071. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004071>

van Gils, S., van der Putten, W. H., & Kleijn, D. (2016). Can above-ground ecosystem services compensate for reduced fertilizer input and soil organic matter in annual crops?. *Journal of Applied Ecology*, 53(4), 1186-1194. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12652>

Vázquez, D. P., Morris, W. F., & Jordano, P. (2005). Interaction frequency as a surrogate for the total effect of animal mutualists on plants. *Ecology letters*, 8(10), 1088-1094. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00810.x>

Velthuis, H. H., & Van Doorn, A. (2006). A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie*, 37(4), 421-451. <https://doi.org/10.1051/apido:2006019>

Vicens, N., & Bosch, J. (2000). Pollinating efficacy of *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Megachilidae, Apidae) on ‘red Delicious’ apple. *Environmental Entomology*, 29(2), 235-240. <https://doi.org/10.1093/ee/29.2.235>

Viechtbauer, W. (2010). Conducting meta-analyses in R with the metafor package. *Journal of Statistical Software*, 36(3), 1-48. <https://doi.org/10.18637/jss.v036.i03>

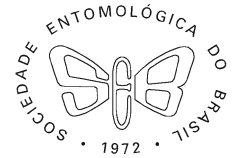
Wheeler, T., & von Braun, J. (2013). *Climate Change Impacts on Global Food Security. Science*, 7341(6145), 508–513. <https://doi.org/10.1126/science.1239402>

Winfree, R., & Kremen, C. (2009). Are ecosystem services stabilized by differences among species? A test using crop pollination. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1655), 229-237. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.0709>

Woodcock, B. A., Edwards, M., Redhead, J., Meek, W. R., Nuttall, P., Falk, S., ... Pywell, R. F. (2013). *Crop flower visitation by honeybees, bumblebees and solitary bees: Behavioural differences and diversity responses to landscape. Agriculture, Ecosystems & Environment*, 171, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.03.005>

Wossen, T., Berger, T., Haile, M. G., & Troost, C. (2018). Impacts of climate variability and food price volatility on household income and food security of farm households in East and West Africa. *Agricultural systems*, 163, 7-15. <https://doi.org/10.1016/j.agry.2017.02.006>

Anexo – Artículos publicados



Insect Pollination, More than Plant Nutrition, Determines Yield Quantity and Quality in Apple and Pear

PL HÜNICKEN^{1,2,3} , CL MORALES⁴ , N GARCÍA⁵, LA GARIBALDI^{1,2,3}

¹Univ Nacional de Río Negro, Instituto de Investigaciones en Recursos Naturales, Agroecología y Desarrollo Rural, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Instituto de Investigaciones en Recursos Naturales, Agroecología y Desarrollo Rural, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina

³Instituto de Investigaciones en Recursos Naturales, Agroecología y Desarrollo Rural, Sede Andina, UNRN, Viedma, Argentina

⁴Instituto Biodiversidad y Medio Ambiente (INIBIOMA), Univ Nacional del Comahue-CONICET, Grupo de Ecología de la Polinización, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina

⁵Centro PYME, Agencia de Desarrollo Económico del Neuquén, Neuquén, Argentina

Keywords

Agricultural production, interaction, pollinators, *Apis mellifera*

Correspondence

PL Hünicken, Univ Nacional de Río Negro, Instituto de Investigaciones en Recursos Naturales, Agroecología y Desarrollo Rural, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina; pablohunicken@gmail.com

Edited by Claudia Inês Silva – UNESP

Received 29 July 2019 and accepted 30 January 2020

© Sociedade Entomológica do Brasil 2020

Abstract

Agricultural yield is the result of multiple factors and ecological processes (e.g., pollination, fertilization, pest control). Understanding how the different factors interact is fundamental to designing management practices aimed to increase these yields, which are environmental friendly and sustainable over time. In this study, we focus on insect pollination and plant nutrition status, since they are two key factors that influence crop yield. The study was carried out in Northwest Patagonia Argentina, which is an area of intensive production of pears and apples of global importance, during the harvest seasons 2018 and 2019. The plant nutrition was estimated from leaf chlorophyll content. Biotic pollination benefits were evaluated by comparing fruit quantity (fruit to flower ratio) and quality (weight, size, and sugar concentration) from approximately 25 flowers exposed to pollinators and 25 flowers excluded to them per tree (a total of 160 apple trees and 130 pear trees). In addition, we estimated the visitation rate of pollinators to flowers and related it to fruit quality in apple. Despite different floral characteristics, we found in both crops a positive effect of insect pollination in both the quantity and the quality of the fruits. Interestingly, the nutrition of the trees, although variable, did not affect either the quantity or the quality of the fruits. Despite the weak effect of nutrition, we found no interaction between pollination and plant nutrition (i.e., additive effects). These results highlight the importance of agricultural practices that promote pollinators on farms.

Introduction

In the past century, agricultural yields (tn. ha⁻¹) were improved by increasing inputs of fertilizers, pesticides, and genetic modifications (i.e., conventional intensification). These practices entail drastic consequences to the environment and biodiversity (e.g., habitat degradation and biodiversity loss, Matson

et al 1997, Tilman 1999). Moreover, conventional agriculture achieves good results in the short term but proved ineffective in maintaining long-term yield, because it harm the ecosystem processes that can sustain the production (Matson *et al* 1997, Brummer 1998). Reaching a sustainable, environmental-friendly agricultural production is therefore a major challenge of this time.

Crop yield is the result of multiple factors of agricultural production that act simultaneously, some of them are natural properties derived from biophysical and/or ecological processes (e.g., pollination, soil fertility) and others are agricultural inputs (e.g., fertilization, irrigation). Despite that, research usually focuses only on one or two factors at a time and compares contrasting levels of them, so non-linear trends, which are expected to be found in yield responses, cannot be detected (Ruel & Ayres 1999). For example, a recent review found nine studies (only three in perennial crops) that evaluate the interaction between pollination and soil fertility/fertilization (Garibaldi et al 2018). These studies are not only scarce, but they also show opposite results: no interaction (Groeneveld et al 2010, Boreux et al 2013, Bartomeus et al 2015, Klein et al 2015, Gils et al 2016), benefits of pollination maximized at low or intermediate levels of nutrients (Marini et al 2015, Tamburini et al 2017), and benefits of pollination maximized at high levels of nutrients (Tamburini et al 2016), highlighting the need of more studies in this field.

Pollinators are determinant to agricultural production, since 70% of the globally most important crop species benefit from animal pollination (Klein et al 2007). Alarming, both wild and managed pollinators are threatened by conventional intensification of agriculture, compromising pollination (Potts et al 2010a, b, González-Varo et al 2013, Aizen et al 2019). This is of particular concern, because global agriculture is increasingly dependent on animal pollination (Aizen & Harder 2009, Aizen et al 2019). Understanding the degree in which pollination and other main factors affect crop yield and how these factors interact is key to develop management practices that enhance crop yield minimizing the impact on the biodiversity and the environment.

In this work, we evaluated the interaction between pollination and plant nutrition on the yield components such as fruit quantity and quality of two crops: apple (*Malus domestica*) and pear (*Pyrus communis*). We performed a manipulative and observational test to answer the following questions: (1) Which factor (i.e., pollination or plant nutrition) is more important to determine yield? (2) Do pollination and plant nutrition interact? If so, in which way?

Material and Methods

Study system

This study was carried out during austral seasons 2017–2018 and 2018–2019 (hereafter 2018 and 2019, respectively), since flowering in September to harvest in March. The study area is an irrigation valley immerse in the arid steppe of Argentine Patagonia, known as the “Alto Valle de Río Negro.” This region concentrates 85 and 75% of the Argentine apple and

pear production respectively (Geslin et al 2017). Typically, the farms present conventional management, with high use of pesticides and fertilizers. The selected farms had the same management practices, so we do not expect pesticides or fertilizers to be responsible for differences between farms. Watering is usually achieved by completely flooding the plot, and tillage is a recurrent practice. Because of the low abundance of wild pollinators, perhaps due to the high use of pesticides, installation of honeybee (*Apis mellifera* (Linnaeus)) hives is a common practice.

The farms selected are near to the locality of “San Patricio del Chañar”, Neuquén province (approx. 38°37'S, 68°18'W, Fig 1). We carried out our measurements in ten trees per farm, in eight apple farms each season, and in seven and six pear farms in the seasons 2018 and 2019, respectively. All farms were separated from each other by at least 1.5 km. The crop varieties chosen were Red Delicious, for apple, and Packham's Triumph, for pear, both representatives of the varieties grown in this region. Both crops have perfect flowers (i.e., female and male organs in the same flower), are self-incompatible, and depend on cross-pollination to set fruit (Jackson 2003, Maccagnani et al 2003, Ramírez & Davenport 2013). The amount and sugar concentration of nectar differ: apple flowers produce more nectar and with higher sugar concentration than pear (Farkas & Orosz-Kovács 2003, Jackson 2003, Maccagnani et al 2007, Díaz et al 2013).

Pollination treatment and visitation rate

To evaluate the effect of insect pollination, we excluded from flower visitors 20.6 ± 0.5 (mean $\pm$ SD) flowers per tree (exclusion treatment), and we marked 27.3 ± 0.5 flowers freely exposed to them (open treatment). Exclusion was performed by covering 1 or 2 inflorescences with tulle bags (mesh size 2 mm). In total, we followed 10,376 individual apple flowers and 9313 pear flowers. During blossom, we did visit censuses in all the focal trees (range = 2–5 and 3–6 census per pear and apple tree respectively), between 9:00 am to 6:00 pm and when the temperature exceeded 15°C. Depending on the time of the day, we randomly selected more or less inflorescences (e.g., in the midday, we cover 3 or 4, while in the morning, we cover approx. 10 inflorescences to avoid false zeros), we counted the number of flowers and recorded the number of flowers visited by each floral visitor during a 10-min timeframe in each tree. Each orchard was sampled on different days and at different times of the day, to cover the temporal variation in the visitation rate. We categorized the visitors in the following functional groups: *A. mellifera*, bumblebees (*Bombus* sp.), hoverflies (Syrphidae), and other species. A mean of 43.2 ± 0.8 and 33.7 ± 0.5 flowers per tree was observed in each census on apple and pear, respectively.

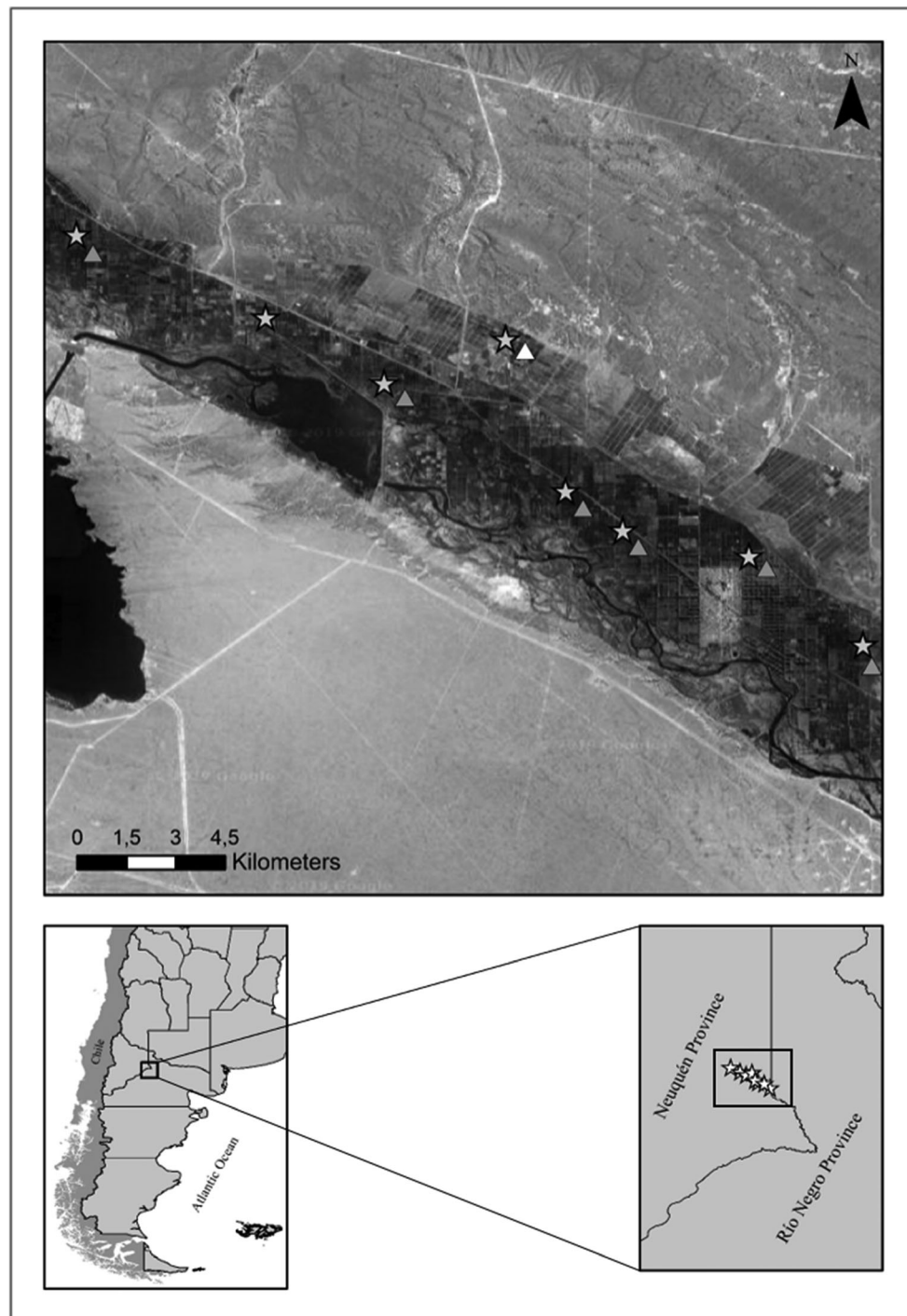


Fig 1 Study area. Apple farms are pointed with stars. Pear farms are pointed with triangles. White triangle represents the pear farm surveyed in season 2018 but not in 2019. Map drawn by Msc. Fernanda Santibañez with ArcGis.

Plant nutrition

To evaluate the nutrition of the trees, we estimated the chlorophyll content on 30 leaves from the midportion of each tree with a SPAD 502-PLUS chlorophyll meter. This instrument provides information on plant vigor and chlorophyll content by measuring the absorbance of two wavelengths

(approx. 650 and 940 nm). The value given by the SPAD is an arbitrary unit that ranges from 0 to (theoretical) infinite; the greater the value, the higher the plant vigor is. SPAD units are a good indicator of plant nutrition, and several studies provide regression equations that allow us to convert the SPAD units to nitrogen concentration (Nielsen *et al* 1995, Porro *et al* 2001, Neto *et al* 2011).

Fruit quantity and quality

Early and final fruit set

In December of each year, ca. 12 weeks after the end of blooming and before the period of natural thinning for pears and chemically induced thinning for apples, we counted the number of fruit set per flowers in branches assigned to our open and exclusion treatments, which was defined as the early fruit set. In February, a few days before harvest, we counted the fruits again in order to calculate the final fruit set.

Fruit quality

In February, when the harvest has just been authorized, we collected all the fruits of our treatments to assess the fruit quality. We measured fruit weight, size (height and diameter), and sugar concentration. Weight was measured using a digital balance with 0.1 g of precision. Height and diameter were measured using a digital caliper with 0.1 mm of precision. Sugar concentration (in BRIX %) was measured using a portable refractometer with 0.2% BRIX of precision.

Statistical analyses

We estimated linear mixed-effects models (LMM) with package “lme4” of R program (Bates *et al* 2015, R Core Team 2015). We used the variables of fruit quality (weight, height, diameter, and sugar) and quantity (earlier and final fruit set) as response variables, with a Gaussian error structure. The assumptions of the models were checked by means of graphics (QQ-plot, predicts vs. residuals, etc.) and analytic inference (Kolmogorov-Smirnov test). We performed two sets of models. In the first one, pollination treatment (factor with two levels: “open” and “exclusion”), chlorophyll content (quantitative, in SPAD units), and season (factor with two levels: “2018” and “2019”) and their interactions were modeled as fixed effects. In the second set of models, we only used the data from the open treatment, so visitation rate (quantitative, number of visit per flower, 10 min⁻¹), chlorophyll content (quantitative, in SPAD units) and season (factor with two levels: “2018” and “2019”) and their interactions were modeled as fixed effects. In all of them, “farm” and “tree” nested within “farm” were modeled as random effects. We selected the minimum adequate model by the lowest AIC (Akaike information criterion) value using the function *dredge* of package MuMin (Burnham *et al* 2011, Barton 2018). We calculated the relative importance value for each predictor variable with the *importance* function in the package MuMin, which sums the “Akaike weights” over all the models that include the predictor variable. Spearman correlations were performed to explore the correlation between variables.

Results

Visitation rate

We recorded a total of 10,371 visits to apple and pear flowers in 1048 pollinator censuses. *Apis mellifera* accounted for the vast majority (99.7%) of the visits in both apple and pear crops. Visitation rate (visits per flower. 10 min⁻¹) was one order of magnitude higher in apple trees (mean $\pm$ SD, 0.32 $\pm$ 0.02) than that in pear trees (0.062 $\pm$ 0.007).

Plant nutrition

Apple trees had a mean ($\pm$ SD) SPAD value of 41.5 $\pm$ 0.3 (range = 29.9–52.1), representing a mean leaf nitrogen concentration of 2.45% of dry weight (range = 2.14–2.74). Pear trees had a mean ($\pm$ SD) SPAD value of 42.0 $\pm$ 0.1 (range = 33.4–46.0), which also represented a mean leaf nitrogen concentration of 2.45% of dry weight (range = 2.02–2.64). For both crops, the nutritional status of the trees represented a gradient within the recommended nitrogen concentration (Neilsen *et al* 2003, Hoying *et al* 2004).

Exclusion treatment, plant nutrition, and crop yield

Exclusion treatment reduced early and final fruit set almost totally in apple trees, compared with the open treatment. In the case of pear trees, early fruit set had no differences between treatments, but the final fruit set of the exclusion treatment was reduced by half compared with the open treatment (see Fig 2 and Table S1 in the supplementary material) in the supplementary material. Although the SPAD level remains in the minimum models, its effect was irrelevant (estimated coefficients and the relative importance of variables are detailed in Tables S1 and S2 in the supplementary material) and did not interact with pollination treatment.

Given the low number of apples harvested from the exclusion treatment, we could not assess its effect on quality. In the case of pears, exclusion worsened all indicators of fruit quality, compared with open (in percent $\pm$ SD): 10 $\pm$ 3% of weight, 5 $\pm$ 2% of diameter and height, 2 $\pm$ 1% of sugar content. Fig 3 shows the response of weight to pollination treatment, which is highly correlated with the rest of the quality variables (see Table S3 in the supplementary material, Spearman correlations). No substantial effect of the SPAD level or interaction was found.

Visitation rate, plant nutrition, and crop yield

Early and final fruit set of both crops was not related to the visitation rate of pollinators. However, all indicators of quality of apples increased per unit of visitation rate (in percent $\pm$ SD): 24 $\pm$ 6% of weight, 14 $\pm$ 3% of diameter, 12 $\pm$ 3% of

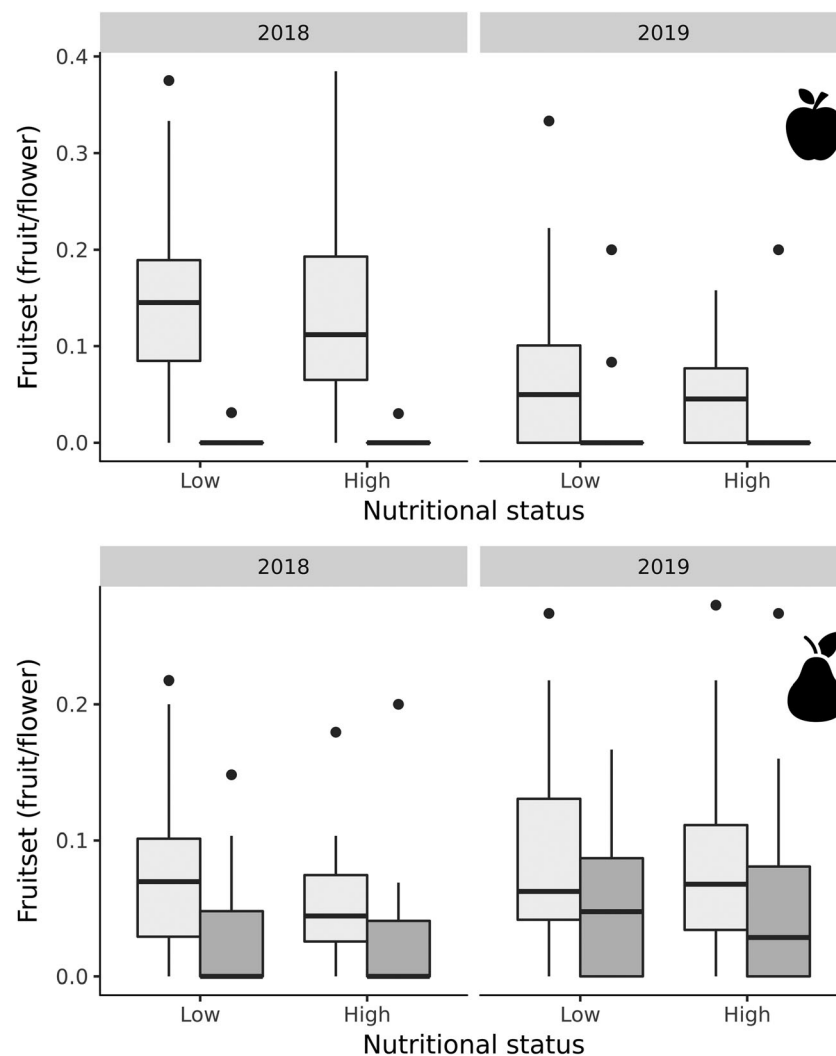


Fig 2 Final fruit set of open (light grey boxes) and exclusion (grey boxes) treatments vs. nutritional status. Above: apples; below: pears. Although SPAD value is quantitative, for better visualization, the values of each tree were standardized according to the median of the farm and categorized the negative values as “low” (i.e., below the median) and the positive ones as “high” (i.e., above the median). Boxes show the inter-quartile range (IQR); horizontal line represents the median; whiskers show the range of 1.5*IQR. Figure build with R.

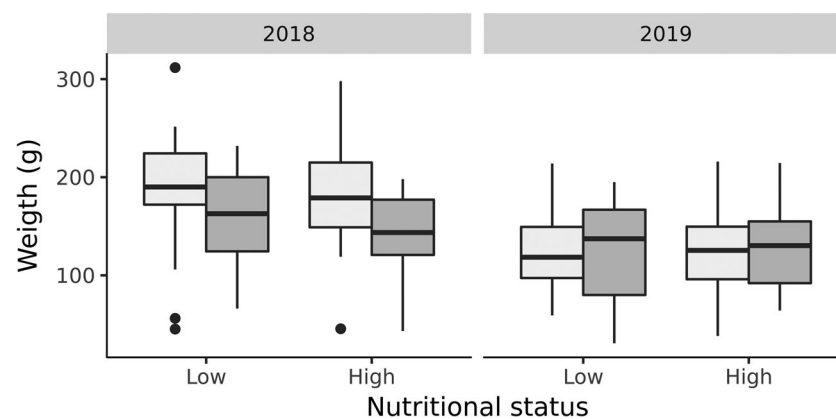


Fig 3 Weight (g) of pears from open (light grey boxes) and exclusion (grey boxes) treatment vs. nutritional status. Although SPAD value is quantitative, for better visualization, the values of each tree were standardized according to the median of the farm and categorized the negative values as “low” (i.e., below the median) and the positive ones as “high” (i.e., above the median). Boxes show the inter-quartile range (IQR); horizontal line represent the median; whiskers show the range of 1.5*IQR. Figure build with R.

height, and $5 \pm 4\%$ of sugar (Fig 4, and Tables S4 and S5 in the supplementary material). For the pears, visitation rate did not remain in the minimum model, possibly due to its low magnitude and variance, which did not allow us to detect a possible effect (see above). Again, no substantial effect of the SPAD level or interaction was found.

Discussion

The analysis of two productive seasons in pear and apple orchards shows the clear benefits to yield of insect pollination in both crops. Interestingly, plant nutrition did not affect in a notorious way both the quantity and quality of yield. Because of this, our results support the hypothesis of the additive effect of nutrition and pollination. Similar results were obtained by Klein *et al* (2015) in almond crop in California, suggesting that perennial crops are more resilient to variation in nutrition levels, perhaps due to the accumulation of nutrients, so in years with lower nutrient uptake the trees would prioritize fruit development over vegetative performance. This is important in view of the yield stability, which will be more reliant on the maintenance of the pollination process than to the nutrient supply.

A major component of yield is fruit quantity. We found a notorious reduction in the final fruit set of flowers isolated from pollinators in pear (48.9% less compared with open treatment) and apple (97.0% less compared with open treatment). Interestingly, the final fruit set was not related to the visitation rate, unlike previous studies in this system (Geslin *et al* 2017). For apple trees, this result suggests that flowers are receiving an optimum value of visits as reported by Vicens & Bosch (2000), because the first decile of visitation rate was 82 visits per hour per 100 flowers. These overwhelming results confirm the improvement in yield quantity given by insect pollination.

Quality (i.e., height, diameter, and weight) of fruits can be as important as the quantity. Small fruit has lower market value, so producer's income is strongly linked to fruit quality (Garratt *et al* 2014). We have found in both apple and pear that insect pollination increases the quality, demonstrating the benefits of pollinators for producers. Fruit weight showed the most notorious response to pollinators. In pear trees, flowers exposed to pollinators produced fruits on average 5% heavier than flowers not exposed, while in apple trees, fruit weight incremented a 24% per visitation rate unit. These results revalue insect pollination since fruit quality is not only a key component of crop yield but also of farmers' profits (Geslin *et al* 2017).

An important point to highlight is that chemical thinning is a regular practice in apple crop. This practice aims to homogenize the quality of the fruits. For this reason, many land managers and agronomists do not conceive pollination as an important factor to consider in agricultural management. Here, we demonstrate that the positive effect of flower visitation by pollinators on fruit quality persists even after chemical thinning. This is probably due to an improvement in the quality of pollen that reaches the flowers, and provides arguments to value pollinators (Aizen & Harder 2007).

In our system, we found strong differences between crops in insect visitation. Because in most orchards, apple and pear tree rows are planted very close to each other, and managed honeybees accounted for almost all flower visits, we do not expect that landscape context or location of the hives to be responsible for this difference in pollinator supply (Free & Williams 1974). Moreover, although in this region pear starts blooming a few days earlier, both crops overlap in most of their blooming time (Díaz *et al* 2013, Geslin *et al* 2017). Therefore, phenological differences, which may reflect different weather conditions in this cold climate, do not seem to be enough to explain one order of magnitude of differences in visitation. Genetic of the hives could be a reason for the

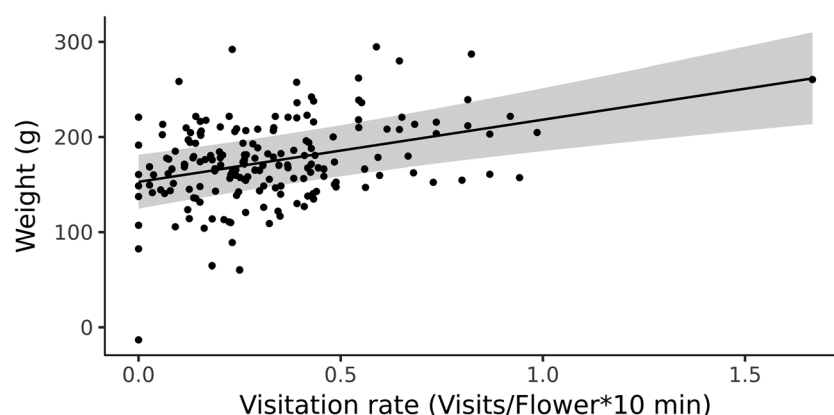


Fig 4 Conditional plot of weight (g) of apple fruit vs. visitation rate (visits per flower. 10 min^{-1}). Grey band represents confidence interval of the prediction line. The removal of the outlier point on the right extreme does not affect the output of the model neither the conclusion. Figure build with R.

preference of apple flowers over the pear flowers (Dag *et al* 2005). Also, the type, quantity, and quality of floral rewards may explain a higher appeal of bees to apple than to pear flowers. A previous study in the same region showed that nectar volume produced by apple flowers is four times larger and nectar sugar concentration is twice higher than those in pear flowers (Díaz *et al* 2013 *supp. Mat*). Moreover, they showed that nectar foragers preferred apple over pear flowers, while pollen foragers showed the opposite preference (Díaz *et al* 2013). Thus, our results suggest a higher demand of nectar than pollen from the beehives of our system.

Although we covered a broad spectrum of the leaf dry nitrogen concentration, in a gradient within the normal recommended range for these crops (Dris *et al* 1999, Dar *et al* 2015), we find a low effect of this in both crops' yield. One possible cause could be that the SPAD value is not related to one key nutrient, besides nitrogen, for fruit development. Porro *et al* (2001) found a positive relationship between the SPAD value and leaves' nitrogen, magnesium, and calcium concentration and a negative relationship for potassium and boron concentration, while phosphorus (an important macronutrient) was not measured. Another possibility could be that perennial crops have resilience to stress. In almond, Esparza *et al* (2001) found a negative effect on yield after 3 years of water stress, while Klein *et al* (2015) found no effect of nutrition or water stress on yield in one harvest season. Our results suggest that yield in both crops is more influenced by insect pollination than nutrient supply.

In conclusion, we have found that insect pollination, which is usually underestimated as a critical process underlying crop yield, can be more (or at least equally important) than other factors such as plant nutrition. Even more, this effect is consistent in two crops with different floral rewards to pollinators, degrees of auto compatibility, and pollinator dependence (Free 1993, Klein *et al* 2007). The fact that pollination has overwhelming effect on yield quantity and quality highlights the importance of management practices that promotes pollinators in farms.

Acknowledgments We thank owners and managers of the farms for opening their doors. We also want to thank Néstor Pérez-Méndez who made valuable comments on the previous version of the manuscript and to Adrián González Chaves, Maria Ramos, Dulce Gómez Carella, Tatiana Machado de Souza, Eduardo Moreira, Rafaela Santos, Alberto Giroto, Joana Ferreira, and Grecia de Groot who assisted in the field.

Authors' Contributions LAG and PLH conceived the idea and designed the study. PLH and NG collected the data. PLH analyzed the data with substantial inputs from LAG. PLH, LAG, and CLM led the writing of the manuscript. All authors gave final approval for publication.

Electronic supplementary material The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s13744-020-00763-0>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

Funding Information This work was financially supported by the Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 2015-2333).

References

- Aizen MA, Aguiar S, Biesmeijer JC, Garibaldi LA, Inouye DW, Jung C *et al* (2019) Global agricultural productivity is threatened by increasing pollinator dependence without a parallel increase in crop diversification. *Glob Chang Biol*. <https://doi.org/10.1111/gcb.14736>
- Aizen MA, Harder LD (2007) Expanding the limits of the pollen-limitation concept: effects of pollen quantity and quality. *Ecology* 88(2):271–281
- Aizen MA, Harder LD (2009) The global stock of domesticated honey bees is growing slower than agricultural demand for pollination. *Curr Biol* 19(11):915–918
- Bartomeus I, Gagic V, Bommarco R (2015) Pollinators, pests and soil properties interactively shape oilseed rape yield. *Basic Appl Ecol* 16(8):737–745
- Barton K (2018). MuMIn: multi-model inference. R package version 1.40.4. <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>
- Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S (2015) Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw* 67(1):1–48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Boreux V, Kushalappa CG, Vaast P, Ghazoul J (2013) Interactive effects among ecosystem services and management practices on crop production: pollination in coffee agroforestry systems. *Proc Natl Acad Sci* 110(21):8387–8392
- Brummer EC (1998) Diversity, stability, and sustainable American agriculture. *Agron J* 90(1):1–2
- Burnham KP, Anderson DR, Huyvaert KP (2011) AIC model selection and multimodel inference in behavioral ecology: some background, observations, and comparisons. *Behav Ecol Sociobiol*. <https://doi.org/10.1007/s00265-010-1029-6>
- Dag A, Stern RA, Shafir S (2005) Honey bee (*Apis mellifera*) strains differ in apple (*Malus domestica*) pollen foraging preference. *J Apic Res* 44(1):15–20
- Dar MA, Wani JA, Raina SK, Bhat MY, Malik MA (2015) Relationship of leaf nutrient content with fruit yield and quality of pear. *J Environ Biol* 36(3):649
- Díaz PC, Arenas A, Fernández VM, Susic Martin C, Basilio AM, Farina WM (2013) Honeybee cognitive ecology in a fluctuating agricultural setting of apple and pear trees. *Behav Ecol* 24(5):1058–1067
- Dris R, Niskanen R, Fallahi E (1999) Relationships between leaf and fruit minerals and fruit quality attributes of apples grown under northern conditions. *J Plant Nutr* 22(12):1839–1851
- Esparza G, DeJong TM, Weinbaum SA, & Klein I (2001). Effects of irrigation deprivation during the harvest period on yield determinants in mature almond trees. *Tree Physiology*, 21(14), 1073–1079. <https://doi.org/10.1093/treephys/21.14.1073>
- Farkas A, Orosz-Kovács Z (2003) Nectar secretion dynamics of Hungarian local pear cultivars. *Plant Syst Evol* 238(1–4):57–67
- Free JB (1993). Insect pollination of crops (No. Ed. 2). Academic press, p 684
- Free JB, Williams IH (1974) Influence of the location of honeybee colonies on their choice of pollen sources. *J Appl Ecol* 11(3):925. <https://doi.org/10.2307/2401754>
- Garibaldi LA, Andersson GK, Requier F, Fijen TP, Hipólito J, Kleijn D, ..., & Rollin O (2018). Complementarity and synergisms among ecosystem services supporting crop yield. *Global Food Security*, 17, 38–47
- Garratt MP, Breeze TD, Jenner N, Polce C, Biesmeijer JC, Potts SG (2014) Avoiding a bad apple: insect pollination enhances fruit quality and economic value. *Agric Ecosyst Environ* 184:34–40

- Geslin B, Aizen MA, Garcia N, Pereira AJ, Vaissière BE, Garibaldi LA (2017) The impact of honey bee colony quality on crop yield and farmers' profit in apples and pears. *Agric Ecosyst Environ* 248:153–161
- Gils S, Putten WH, Kleijn D (2016) Can above-ground ecosystem services compensate for reduced fertilizer input and soil organic matter in annual crops? *J Appl Ecol* 53(4):1186–1194
- González-Varo JP, Biesmeijer JC, Bommarco R, Potts SG, Schweiger O, Smith HG, Steffan-Dewenter I, Szentgyörgyi H, Woyciechowski M, Vilà M (2013) Combined effects of global change pressures on animal-mediated pollination. *Trends Ecol Evol* 28(9):524–530
- Groeneveld JH, Tschardt T, Moser G, Clough Y (2010) Experimental evidence for stronger cacao yield limitation by pollination than by plant resources. *Perspect Plant Ecol Evol Syst* 12(3):183–191
- Hoying S, Fargione M, Iungerman K (2004) Diagnosing apple tree nutritional status: leaf analysis interpretation and deficiency symptoms. *N Y Fruit Q* 12(11):16–19
- Jackson JE (2003) The biology of apples and pears. Cambridge University Press, Cambridge, pp 268–317
- Klein AM, Hendrix SD, Clough Y, Scofield A, Kremen C (2015) Interacting effects of pollination, water and nutrients on fruit tree performance. *Plant Biol* 17(1):201–208
- Klein AM, Vaissière BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tschardt T (2007) Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc R Soc B: biological sciences* 274(1608):303–313
- Maccagnani B, Burgio G, Stanisavljevic LZ, Maini S (2007) *Osmia cornuta* management in pear orchards. *Bull Insectol* 60(1):77
- Maccagnani B, Ladurner E, Santi F, Burgio G (2003) *Osmia cornuta* (Hymenoptera, Megachilidae) as a pollinator of pear (*Pyrus communis*): fruit and seed set. *Apidologie* 34(3):207–216
- Marini L, Tamburini G, Petrucco-Toffolo E, Lindström SA, Zanetti F, Mosca G, Bommarco R (2015) Crop management modifies the benefits of insect pollination in oilseed rape. *Agric Ecosyst Environ* 207:61–66
- Matson PA, Parton WJ, Power AG, Swift MJ (1997) Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science* 277(5325):504–505
- Neilsen D, Hogue EJ, Neilsen GH, Parchomchuk P (1995) Using SPAD-502 values to assess the nitrogen status of apple trees. *HortScience* 30(3):508–512
- Neilsen GH, Neilsen D, Ferree DC, Warrington IJ (2003) Nutritional requirements of apple. In: Ferree DC, Warrington IJ (eds) *Apples: botany, Production and Uses*. CABI Publishing, Wallingford, pp 267–302
- Neto CB, Carranca C, Clemente J, de Varennes A (2011) Assessing the nitrogen nutritional status of young non-bearing 'rocha' pear trees grown in a mediterranean region by using a chlorophyll meter. *J Plant Nutr* 34(5):627–639
- Porro D, Dorigatti C, Stefanini M, Ceschini A (2001) Use of spad meter in diagnosis of nutritional status in apple and grapevine. *Acta Hort* 564:243–252
- Potts SG, Biesmeijer JC, Kremen C, Neumann P, Schweiger O, Kunin WE (2010a) Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends Ecol Evol* 25(6):345–353
- Potts SG, Roberts SP, Dean R, Marris G, Brown MA, Jones R, ... & Settele J (2010b). Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. *J Apic Res*, 49(1), 15–22
- Ramírez F, Davenport TL (2013) Apple pollination: a review. *Sci Hort* 162:188–203
- R Core Team (2015) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical computing, Vienna URL <https://www.R-project.org/>
- Ruel JJ, Ayres MP (1999) Jensen's inequality predicts effects of environmental variation. *Trends Ecol Evol* 14(9):361–366
- Tamburini G, Berti A, Morari F, Marini L (2016) Degradation of soil fertility can cancel pollination benefits in sunflower. *Oecologia* 180(2):581–587
- Tamburini G, Lami F, Marini L (2017) Pollination benefits are maximized at intermediate nutrient levels. *Proc R Soc B Biol Sci* 284(1860):20170729
- Tilman D (1999) Global environmental impacts of agricultural expansion: the need for sustainable and efficient practices. *Proc Natl Acad Sci* 96(11):5995–6000
- Vicens N, Bosch J (2000) Pollinating efficacy of *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Megachilidae, Apidae) on 'Red Delicious' apple. *Environ Entomol* 29(2):235–240

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Insect pollination enhances yield stability in two pollinator-dependent crops

Pablo L. Hünicken^{a,b,*}, Carolina L. Morales^c, Marcelo A. Aizen^c, Georg K.S. Anderson^d, Nancy García^e, Lucas A. Garibaldi^{a,b}

^a Universidad Nacional de Río Negro. Instituto de Investigaciones en Recursos Naturales, Agroecología y Desarrollo Rural, Río Negro, Argentina

^b Consejo Nacional de investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Investigaciones en Recursos Naturales, Agroecología y Desarrollo Rural, Río Negro, Argentina

^c Grupo de Ecología de la Polinización, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA), Universidad Nacional del Comahue-CONICET, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina

^d Centre for Environmental and Climate Research, Lund University, Sweden

^e Centro PYME, Agencia de Desarrollo Económico del Neuquén, Neuquén, Argentina

ARTICLE INFO

Keywords:

Apis mellifera
Fruit production
Honey bee
Malus domestica
Pollination variability
Pyrus communis
Spatial stability
Temporal stability

ABSTRACT

One of the most important challenges facing global agriculture is to ensure an adequate, stable food supply while conserving soil, water and biodiversity. The yield stability of pollinator-dependent crops, such as pear and apple, can be negatively affected by variability of the pollination service, which in turn can reduce mean yield. We explored how mean crop yield and yield variability were affected by pollinators and variability in their provision of the pollination service. Over four seasons we conducted a manipulative experiment in six pear and eight apple farms; fruit set (i.e., no. fruits/ no. flowers) was compared between flowers exposed to pollinators and those excluded from pollinators. We also recorded pollinator visitation rate to exposed flowers. We estimated the mean levels and spatial and temporal variability of both pollinator visitation and yield response by calculating the mean values per farm and the spatial (i.e., across trees within farm) and temporal (i.e., across seasons within farm) coefficients of variation (CV) for visitation rate and fruit set. Despite homogeneous irrigation and fertilization, we found strong variability in fruit set in both crops (pear spatial and temporal CV: 0.57 and 0.4, respectively; apple: 0.62 and 0.52). Pollinator exclusion reduced mean fruit set considerably in both crops (pears: a reduction of 50%, apples: 71–92%), and increased spatial and temporal variability (pears: 296% and 197% for spatial and temporal variability, respectively; apples: 385% and 329%). Visitation rates in pears were positively associated with mean fruit set and negatively related to its spatial CV. Also, in this crop we found a positive relation between the spatial CV of visitation rate and fruit set. However, there was no evidence that visitation rate in open-pollinated apple flowers affected either mean fruit set or its spatial or temporal variability. Apple trees received one order of magnitude more visits per flower than pear trees, suggesting that in this system the pollination service meets the pollination demand of the apple crop. Overall, our results highlight the importance of management practices that prioritize pollination service, thus ensuring a high, stable yield.

1. Introduction

Ensuring a stable, adequate food supply while minimizing environmental degradation is one of the most important challenges facing global agriculture today. In fact, conventional intensification of agriculture has been successful in increasing yields in the short term, but this has come at the cost of high external subsidies and the deterioration of ecosystem functions like nutrient cycling, biological pest control and pollination (Krebs et al., 1999; Matson et al., 1997; Foley et al., 2005). In

this way, conventional agriculture compromises future yields, decreasing their spatial and temporal stability (Deguines et al., 2014). Improving knowledge of the relation between ecosystem functions and crop yield is therefore key to dealing with the challenges of increasing crop productivity and stability.

Globally, ~70% of cultivated species depend to some extent on insect pollination (Klein et al., 2007). Furthermore, global agriculture has become increasingly pollinator-dependent, cropland expansion having been driven mainly by increasing the area devoted to

* Correspondence to: Anasagasti 1463, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina.

E-mail addresses: pablohunicken@gmail.com, phunicken@unrn.edu.ar (P.L. Hünicken).

<https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107573>

Received 4 December 2020; Received in revised form 5 June 2021; Accepted 9 July 2021

Available online 26 July 2021

0167-8809/© 2021 Elsevier B.V. All rights reserved.

pollinator-dependent crops (Aizen et al., 2008, 2009). Although the importance of abundant, diverse pollinator assemblages for the yield of pollinator-dependent crops has been amply confirmed (Garibaldi et al., 2013; Dainese et al., 2019), their role in crop stability has received less attention (e.g., Kremen et al., 2004; Klein, 2009; Geeraert et al., 2020). Two studies have reported patterns that point to animal pollination as a driving factor of yield stability in pollinator-dependent crops. First, Garibaldi et al. (2011a) found on a global scale that lower mean yield and higher temporal variability were associated with a higher degree of pollination dependence in crops. Second, Deguines et al. (2014) reported patterns on a country scale of reduced mean yield and higher spatial variability in highly pollinator-dependent crops along gradients of increasing agricultural intensification. Therefore, addressing how pollination function affects crop yield and stability over space and time is of paramount importance.

This question should take into account not only how crop yields and their spatial and temporal variability respond to the provision of pollination service (i.e., mean values), but also how these responses are influenced by variability in the pollination service itself. For instance, Geeraert et al. (2020) showed that non-*Apis* diversity increased temporal stability in coffee yields, while Klein (2009) showed that lower variability in bee richness close to forest edges was associated with high coffee yields and reduced spatial yield variability. These results highlight the influence of pollinator diversity and its spatio-temporal stability on crop yields and their spatial and temporal stability. However, since under the current dominance of conventional agriculture a large proportion of commercial crops rely almost exclusively on few or even a single pollinator species (mostly honeybees, Klein et al., 2007), we need a broader conceptual framework within which to study the variation in crop yields associated with variation in the quantitative aspect of pollination function (e.g., pollinator abundance or visitation frequency). Such a framework could be applied to different crop systems, regardless of species diversity or composition. Here we applied a conceptual framework that enabled us to simultaneously evaluate the effect of spatial and temporal variability in pollinator visits on spatial and temporal variability in fruit set in the pear and apple, two crops with great pollinator dependence (Klein et al., 2007).

Yield typically increases asymptotically with the addition of resources such as nutrients, water or pollen (Fig. 1, Rubio et al., 2003). The shape of this response has several consequences. First, within a certain range, increases in mean resource supply are expected to enhance mean yield (Fig. 2-A1). Second, increases in mean resource supply are expected to reduce variability in crop yield (Fig. 2-B1). Third, for a certain mean resource supply, mean yield is lower when resource supply variability is higher (higher coefficient of variation – hereafter CV) than expected, for a stable resource supply (lower CV); this is a consequence of what is known as Jensen's inequality (Fig. 2-C1, Ruel and Ayres, 1999). Finally, a more direct and less empirically assessed consequence is that yield variability is expected to increase with high variability of

resource supply (Fig. 2-D1). Although the enhanced yields at high pollination service levels predicted by Fig. 2-A1 have been broadly confirmed (Aizen et al., 2009; Garibaldi et al., 2013; Klein et al., 2007), few studies have tested the other three relationships (Fig. 2-B1,C1,D1). Since pollination is not as frequently managed as fertilization or watering, yield variation in pollinator-dependent crops could be more strongly linked to variation in pollen supply (Garibaldi et al., 2011a, 2011b).

We aim to explore the influence of pollinators and variability in the provision of pollination service on mean crop yield and its variability. To this end, we constructed a 4-year time series of pollinator visitation rates and fruit set in the pear and apple. We evaluated the effect of pollinator exclusion and mean levels of visitation rate, plus the spatial and temporal variability of visitation rate, on fruit set mean levels and spatial and temporal variability of fruit set. We expect that mean fruit set will increase with pollinator access to flowers and mean visitation rate (Fig. 2-A1), and decrease with the visitation rate spatial and temporal CV (Fig. 2-C1). In addition, we expect that fruit set CV will decrease with pollinator access to flowers and mean visitation rate (Fig. 2-B1), and increase with visitation rate spatial and temporal CV (Fig. 2-D1).

2. Material and methods

2.1. Study system

This study was carried out during the austral growing seasons of 2015–2016, 2016–2017, 2017–2018 and 2018–2019 (hereafter 2016, 2017, 2018 and 2019, respectively), from flowering in September to harvesting in March. The study area is an irrigation valley that lies in the arid region of northern Argentine Patagonia, known as the 'Alto Valle de Río Negro y Neuquén' (Cabrera and Willink, 1973). This region concentrates ~90% of Argentinean pear and apple production (Avellá et al., 2018). Typically, the farms are managed conventionally, with high use of pesticides and fertilizers. Watering is achieved by completely flooding the plot, and tillage of top soil between tree rows is a recurrent practice. Pollination management involves the deployment of honeybee (*Apis mellifera*) hives around the orchards. In December, chemical thinning is carried out on the apple trees in order to reduce the development of small fruits. The abundance of wild pollinators during the flowering period of pears and apples is close to zero on these farms (Geslin et al., 2017; Hünicken et al., 2020; Pérez-Méndez et al., 2020).

The farms selected are near the locality of 'San Patricio del Chañar', Neuquén province (approx. 38°37' S, 68°18' W, Fig. S1). We took measurements on six pear farms and eight apple farms, in ten trees per farm in 2016, 2018 and 2019 and five trees per farm in 2017. All the farms of each crop were separated from each other by at least 1.5 km. All farms used field flooding for irrigation (except one, which used drip irrigation) and applied the same fertilizers (manure and foliar fertilizer). The trees on each farm were distributed in rows, each row containing a single variety, and alternating rows were of different varieties. All selected trees were from the same row, so the effect of distance to another variety was controlled for. The crop varieties selected were Packhams' Triumph for pear, and Red Delicious for apple, two typical varieties grown in this region. Both crops have perfect flowers (i.e., female and male organs in the same flower); they are largely self-incompatible, and depend on cross-pollination to set the fruit (Jackson, 2003; Maccagnani et al., 2003; Ramírez and Davenport, 2013). According to the categories of Klein et al. (2007), both crops are greatly dependent on pollinators (i.e., production decreases by 40–90% in the absence of pollinators). Although the flowers of both crops have nectaries, the amount and concentration of sugar differs: apple flowers produce a higher volume of nectar with higher sugar concentration than pear flowers (Farkas and Orosz-Kovács, 2003; Jackson, 2003; Maccagnani et al., 2007; Díaz et al., 2013).

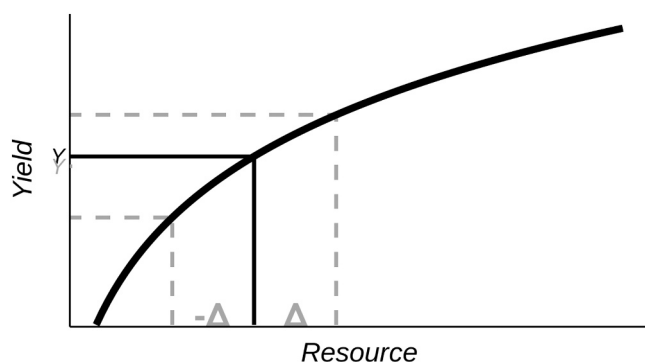


Fig. 1. - General relation of yield (e.g., fruit $\times$ flower⁻¹) to resource availability.

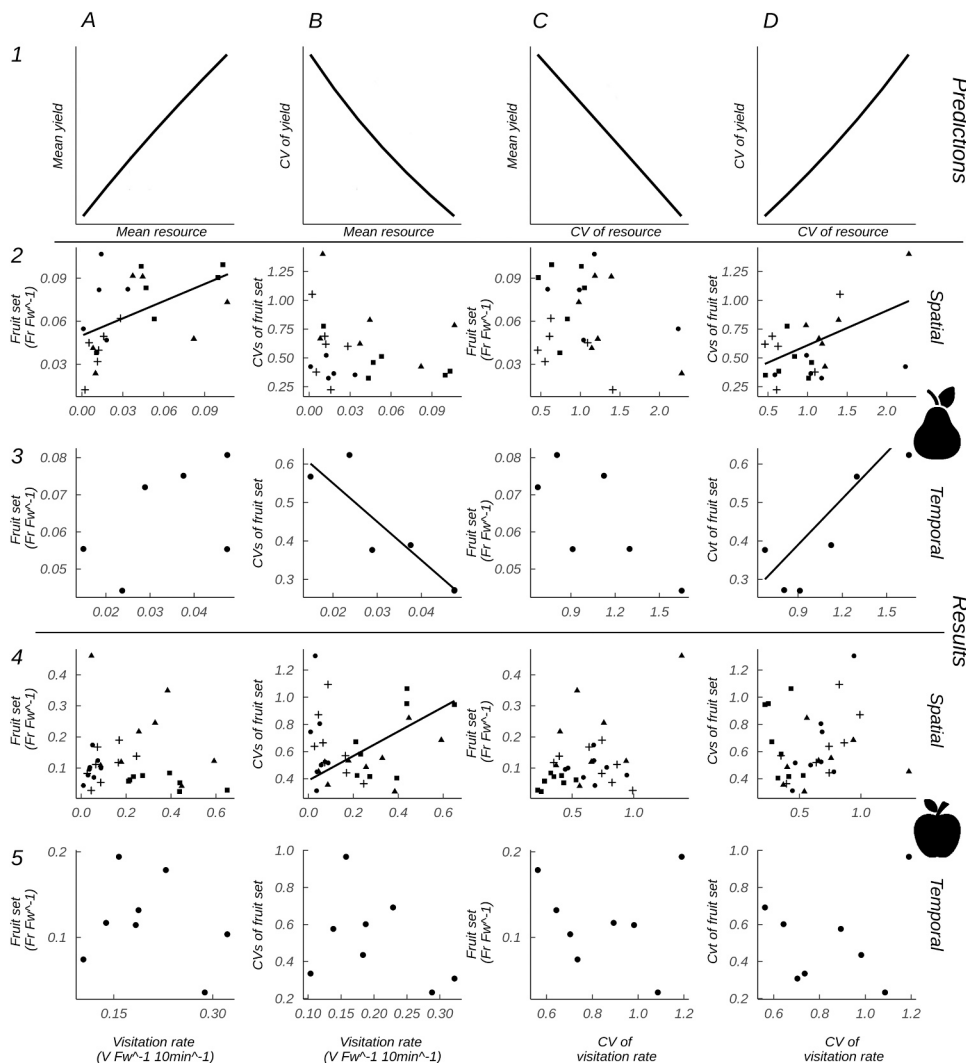


Fig. 2. - Predictions and results of the effect of visitation rate (mean and CV) on fruit set (mean and CV) of pears and apples. Row 1 shows the relations predicted of (A) Mean yield to mean resource. (B) Coefficient of variation in yield to mean resource. (C) Mean yield to coefficient of variation of resource. (D) Coefficient of variation of yield to coefficient of variation of resource. Please note that the relations predicted are not linear. Rows 2–3: results for pear; 4–5: apple. Rows 2 and 4 reflect the data used for the ‘spatial variation models’ and each symbol refers to a season (cross: 2016, circle: 2017, triangle: 2018, square: 2019). Rows 3 and 5 reflect the data used for the ‘temporal variation models’. Regression lines were added when the effect of visitation rate (mean or CV) is statistically significant ($p < 0.05$). Visitation rate = Visit $\times$ Flower $^{-1} \times 10 \text{ min}^{-1}$, Fruit set = Fruit $\times$ Flower $^{-1}$. Note the difference in scales in the x and y axes between rows.

2.2. Pollination treatment

To evaluate the effect of insect pollination, on each tree we excluded a number of pear and apple flowers from visits (pear mean $\pm$ SD: 22.6 ± 0.5 ; apple: 18.1 ± 0.6) (exclusion treatment), and marked a number of exposed pear and apple flowers (pear mean $\pm$ SD: 65 ± 2 ; apple: 46.6 ± 0.9) (open treatment). Sampled inflorescences were randomly located in the middle section of each tree. Exclusion was performed by covering 2 or 3 inflorescences with tulle bags (mesh size 2 mm). In total we followed 8054, 4631, 4522 and 4829 pear flowers and 4793, 2909, 4578 and 5830 apple flowers during seasons 2016, 2017, 2018 and 2019, respectively. When fruits ripened in February, we counted the number that had developed from flowers assigned to our open and exclusion treatments; this enabled us to estimate fruit set, defined as the ratio of developed fruits to tagged flowers. Beehives were placed on the road that separates the pear and apple trees, so distance to the hives was similar for both tree types.

2.3. Visitation rate

During each flowering season we surveyed flower visitation 2–6 times in all focal trees, between 9:00 am and 6:00 pm, when the temperature exceeded 15°C . Two methods were used to assess visitation rate. In 2016 and 2017 we took measurements only in the flowers tagged for the ‘open’ treatment and recorded the number of visits made by each

insect over 10 min. Because of the low sensitivity of this method in detecting visits, in 2018 and 2019 we took measurements in a larger number of randomly selected inflorescences, counting the number of flowers and recording the number of visits made by each insect over 10 min. We categorized the visitors into the following functional groups: *A. mellifera*, bumblebees (*Bombus* sp.), hoverflies (Syrphidae), and other species. Over the first two seasons a mean $\pm$ SD of 16.7 ± 0.3 and 9.6 ± 0.2 flowers per tree were observed in each census on pear and apple, respectively. Over the second two seasons a mean $\pm$ SD of 34.1 ± 0.8 and 37 ± 1 flowers per tree were observed in each census on pear and apple, respectively.

2.4. Spatial and temporal variability

For both the variables measured (fruit set and visitation rate), we calculated the mean value across trees for each farm and season. In addition, we calculated the respective coefficients of variation (CV) by dividing the standard deviation by the mean value. We called this new variable spatial CV, since it reflects variation among trees within a farm. We used the mean values for each farm in each year to calculate the mean value by farm over the four seasons, and its respective CV. The latter was called temporal CV, as it reflects the variation among seasons within a farm. The scales selected (i.e., for both spatial and temporal variation within a farm) are relevant from an agronomic perspective, since producers are able to modify possible sources of this variation via

changes in their management practices.

2.5. Statistical analyses

We estimated linear mixed-effects models (LMM) and linear models (LM) with the 'nlme' package and 'base' package of R program, respectively (Pinheiro et al., 2016; R Core Team, 2018). We included the factor "Season" as a composite variable to control for climatic effects. Climatic variables for the years of our study are described in Table S1.

To analyze the effects of pollination on mean fruit set and its spatial variability, we performed two sets of models (Table 1 and S2). In the first we tested the effect of exclusion treatment, season, and the interaction between these variables, on mean fruit set and spatial CV of fruit set. In the second set of models, using data from only exposed flowers, we tested the effect of mean visitation rate, season, and the interaction between these variables, on mean fruit set and spatial CV of fruit set. We also tested the effect of visitation rate CV, season, and the interaction between these variables on mean fruit set and its spatial CV. Farm was set as a random factor in all models.

Regarding the effects of pollination on the levels and temporal variability of fruit set, we also performed two sets of models (Table 2 and S3). In the first we tested the effect of exclusion treatment on fruit set (mean and CV), and Farm identity was modeled as a random effect. In the second set of models, using data from only exposed flowers, we tested the effect of visitation rate (mean and CV) on fruit set (mean and CV).

The assumptions of normality, independence and homoscedasticity of all the models were visually checked (QQ-plot, predicted vs. residuals and histogram of residuals). Some variables were log transformed to achieve normality. We tested the significance ($p < 0.05$) of variables using the *Anova* function of 'car' package (Fox and Weisberg, 2011). When interaction was not significant, it was removed from the final model in order to make more accurate estimates of coefficients.

Table 1

– Chisq values of each predictor variable of the 'spatial variation' models. Chisq and p values were calculated with the *Anova* function of the car package. Chisq values whose p-values are lower than 0.05 are shown in bold type; chisq values whose p-values are lower than 0.1 are in italics. In the exclusion treatment model of apples, fruit set was log transformed to achieve normality.

	Predictor	Pear		Apple	
		Fruit set	Spatial CV of fruit set	Fruit set	Spatial CV of fruit set
Exclusion treatment models	Exclusion	23.3***	59.0***	106***	301.3***
	Season	12.9**	7.0	15.2**	6.1
Visitation rate models	Exclusion: Season	5.6	14.5**	28.8***	27.0***
	Visitation rate	5.0*	3.6	1.5	7.2**
Spatial CV of visitation rate models	Season	7.6	10.9*	21.8***	8.4*
	Visitation rate: Season	0.5	0.3	2.7	4.2
	Spatial CV of visitation rate	2.5	6.5*	3.8	3.4
	Season	13.4**	10.3*	15.6**	4.8
	Spatial CV of visitation rate: Season	1.3	7.1	6.4	10.8*

· : $p < 0.1$;

* : $p < 0.05$;

** : $p < 0.01$;

*** : $p < 0.001$.

Table 2

– Chisq (exclusion models) and F- values (visitation rate – mean and CV – models) of each predictor variable of the 'spatial variation' models. Chisq, F- and p- values are calculated with the *Anova* function of the car package. Chisq or F- values whose p-values are lower than 0.05 are shown in bold type; chisq or F- values whose p-values are lower than 0.1 are in italics. In the exclusion treatment model of apples, fruit set was log transformed to achieve normality.

	Predictor	Pear		Apple	
		Fruit set	Temporal CV of fruit set	Fruit set	Temporal CV of fruit set
Exclusion treatment models	Exclusion	28.4***	17.4***	52.4***	44.6***
Visitation rate models	Visitation rate	1.9	17.2*	0.4	1.2
Temporal CV of visitation rate models	Temporal CV of visitation rate	5.1	12.0*	0.1	0.2

· : $p < 0.1$;

* : $p < 0.05$;

*** : $p < 0.001$.

3. Results

3.1. Trends in visitation rate

The total number of observed visits differed greatly between the first two and the last two seasons, probably due to the different pollinator sampling methodologies. In flowering seasons 2016 and 2017, we observed a total of 548 visits to 45,810 flowers over a total of 2180 h of pear and apple flower monitoring, while in seasons 2018 and 2019 we observed a total of 10371 visits to 41,423 flowers over a total of 629 h. *Apis mellifera* accounted for almost all (99.7%) the visits to flowers of both crops. Visitation rate (visits per flower $\times 10 \text{ min}^{-1}$) was almost one order of magnitude higher in apple than in pear trees for both seasons 2016 and 2017 (apple mean $\pm$ SD: 0.092 ± 0.006 , pear: 0.013 ± 0.001) and seasons 2018 and 2019 (apple mean $\pm$ SD: 0.36 ± 0.02 , pear: 0.067 ± 0.006).

3.2. Effects of pollinator exclusion

In both crops the exclusion of pollinators had a statistically significant effect on mean fruit set (Tables 1 and 2, Fig. 3) and its spatial and temporal CV (Tables 1 and 2, Fig. 4). In pears we estimated a decrease of 50% in mean fruit set among pollinator-excluded flowers in both spatial and temporal models (Tables S2 and S3). In apples the exclusion treatment interacted with season (spatial models), so there were two years with reductions of almost 100% due to the exclusion (2016 and 2018) and one with a reduction of 30% (2019). Overall, we estimated a decrease in mean fruit set of 71% in excluded flowers (Table S2). In the temporal models, we estimated a decrease of 92% in the apple fruit set of excluded flowers (Table S3).

The spatial CV of fruit set strongly increased in both crops with pollinator exclusion, although this variable interacted with season (Fig. 4a, b). In pears we estimated an increase of between 155% and 496% in fruit set CV due to pollinator exclusion. In apples the estimated increase in the CV of fruit set due to exclusion was 248% and 495%, depending on the season (Table S2). Overall, the increase in fruit set spatial CV for the excluded flowers was 296% in pears and 385% in apples. The temporal CV of fruit set increased with exclusion by 197% for pears and 329% for apples (Fig. 4c,d, Table S3).

3.3. Effects of mean visitation rate

In the spatial models, the effects of mean visitation rate on fruit set (mean and spatial CV) were different in pears and apples. In pears we

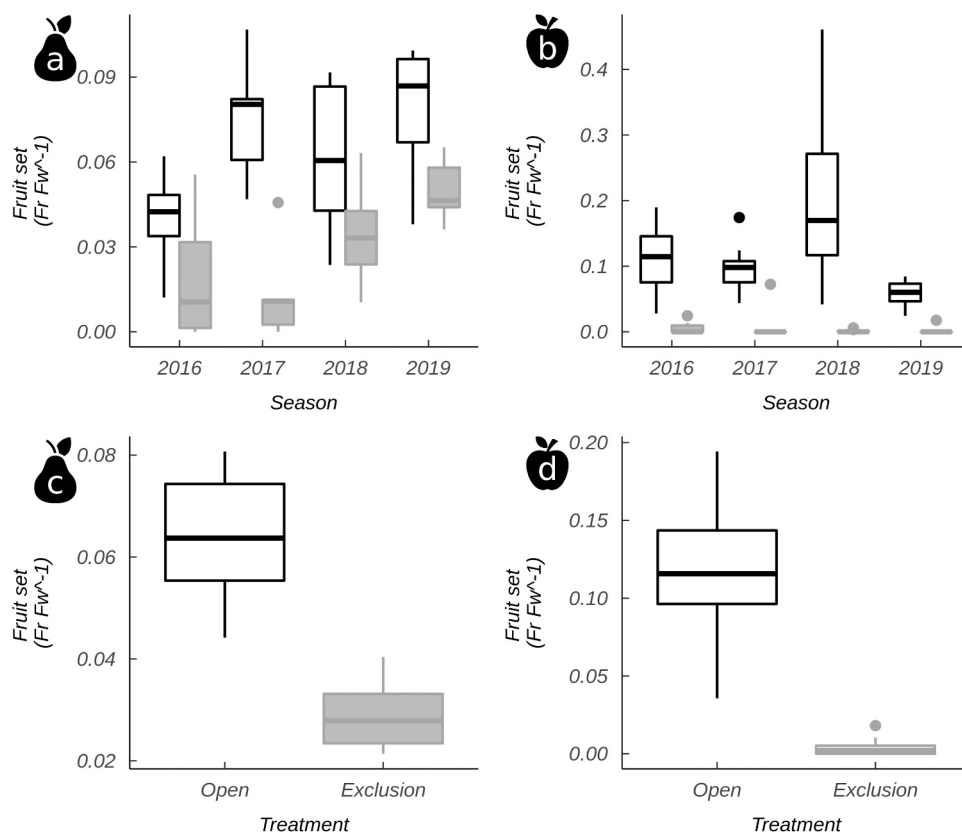


Fig. 3. - Effect of pollinator exclusion on mean fruit set of pears and apples. Left panels: pears, right panels: apples. (a) and (b) illustrate the data used for the 'spatial variation models'; (c) and (d) show the data used for the 'temporal variation models'. White boxes: open treatment, gray boxes: exclusion treatment. Boxes show the inter-quartile range (IQR), horizontal lines represent the median, and whiskers show the range of 1.5 * IQR. Mean fruit set = fruit $\times$ flower⁻¹. Note the difference in scales on the y axis between crops.

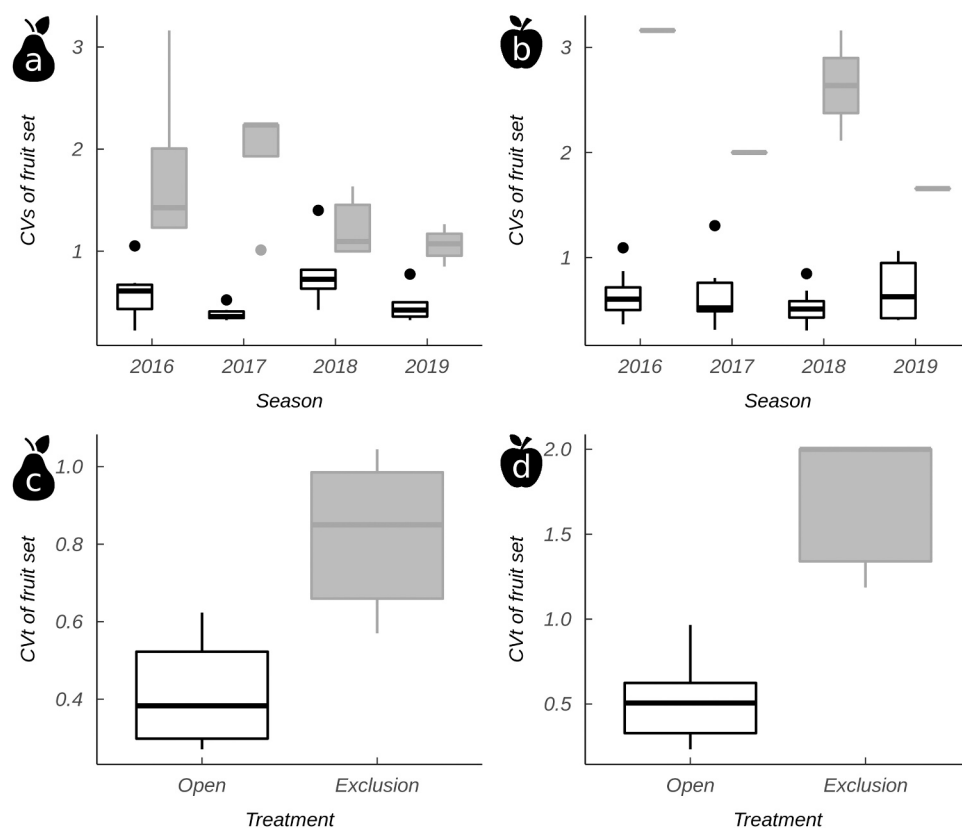


Fig. 4. - Effect of pollinator exclusion on the spatial and temporal coefficients of variation (CV) of fruit set in pears and apples. (a) and (b) illustrate the data used for the 'spatial variation models'; (c) and (d) show the data used for the 'temporal variation models'. White boxes: open treatment, gray boxes: exclusion treatment. Boxes show the inter-quartile range (IQR), horizontal lines represent the median, and whiskers show the range of 1.5 * IQR. Fruit set = Fruit $\times$ Flower⁻¹, CV = standard deviation over mean.

found a statistically significant increase in mean fruit set of 0.4 per unit of visitation rate (Fig. 2-A2, Table S2), while in apples mean visitation rate had a significant effect on the spatial CV of fruit set (Table 1, Fig. 2-B4). This effect was contrary to our predictions (i.e., spatial CV of fruit set increased 0.9 units per unit of visitation rate, Table S2). Interaction between mean visitation rate and season was non-significant for all models (Table 1).

Surprisingly, analysis of the temporal models did not show any significant effect of visitation rate on mean fruit set in either crop (Fig. 2-A3 and A5) or on the temporal CV of apple fruit set (Fig. 2-B5). However, we did find a statistically significant effect of mean visitation rate on the temporal CV of fruit set in pears (Fig. 2-B3, Table 2), as it decreased by 0.36 units per unit increase in visitation rate (Table S3).

3.4. Effects of CV of visitation rate

In the spatial models we found no statistically significant association between the spatial CV of visitation rate and the mean fruit set of either crop (Table 1 and Fig. 2-C2 and C4). Regarding the effect of the spatial CV of visitation rate on the fruit set CV, in pears we found a significant positive effect (an increase of 0.3 units per unit of visitation rate CV, Table S2, Fig. 2-D2) while in apples there was no significant effect (Table 1, Fig. 2-D4). Finally, in the temporal models the effect of the temporal visitation rate CV on fruit set (mean or temporal CV) was statistically significant only for the pear fruit set CV, showing an increase of 0.4 units per unit of visitation rate CV (Table 2, S3 and Fig. 2-C3, D3, C5 and D5).

4. Discussion

Our results show the important contribution of insect pollination to mean yield and yield stability over space and time in pears and apples. Despite homogeneous, managed watering and fertilization, large spatial and temporal variability was found in the pollination and yield of both crops. We found that the absence of pollinators decreased mean fruit set (Fig. 3) and increased its spatial and temporal variability (Fig. 4). Regarding the role of pollinator (honey bee) visits, the effect of mean visitation rate or their CVs on fruit set (mean and CVs) differed between the crops studied (Fig. 2).

The exclusion treatment simulates a "no pollinator" scenario. In the case of pears, we observed that it reduced fruit set by 50% in both spatial and temporal models. Moreover, this became more variable, the spatial and temporal CV of fruit set increasing by 296% and 197% with pollinator exclusion, respectively (Table S2 and Table S3). In apples, pollinator exclusion led not only to a greater reduction in fruit set than for pears (71% in spatial models and 92% in temporal models) but also to a more marked increase in spatial (385%) and temporal (329%) CV (Tables S2 and S3). This notable reduction in fruit set in both crops is consistent with their categorization as crops whose pollinator dependence is "great" (Klein et al., 2007). However, this category encompasses a wide range of pollinator dependencies (i.e., reductions in yield of between 40% and 90%). According to our results, fruit set in apples is more pollinator-dependent than in pears, almost reaching the category where the contribution of pollinators is "essential" (i.e., a reduction equal to or more than 90% in the absence of pollinators). Moreover, we showed that pollinators not only contribute to an increase in fruit set in both crops (Fig. 3), but also, and even more strongly, contribute to a reduction in spatial and temporal yield variability (Fig. 4). The difference in the magnitude of this effect between crops may suggest that the greater the contribution of pollinators to producing fruits in a crop, the greater their contribution to yield stability in space and time. While the correlation between crop pollinator dependence and the temporal variability of yield has been documented on a global scale (Garibaldi et al., 2011a), the relation with spatial variability shown here warrants further testing on different spatial scales.

Although the scenario of "no pollinators" is hypothetical, many

agricultural systems throughout the world are managed under conventional intensification, relying exclusively on hiring beehives to supply pollination demand (Klein et al., 2007, 2015; Ellis, 2012). This is the case of our study system, where ~99% of the insects visiting flowers were managed honeybees (Geslin et al., 2017; Hünicken et al., 2020; Pérez-Méndez et al., 2020). These results should serve as a warning that agricultural practices should be adjusted in order to ensure the presence of viable populations of wild pollinators, not only to increase crop yields but also to guarantee the spatial and temporal stability of these yields (see more detailed discussion below).

When we took the mean visitation rate or their CV as predictors, we found dissimilar effects between the fruit crops. In the case of pears, the effect of visitation rate on mean fruit set was statistically significant and consistent with our expectations (i.e., mean visitation rate increased mean fruit set (Fig. 2-A2, Table 1 and Table S2). Furthermore, the visitation rate spatial CV increased the fruit set spatial CV (Fig. 2-D2). A similar result was reported by Klein (2009) for bee-pollinated coffee: spatial variation in bee species richness on a farm scale decreased the mean fruit set and increased its spatial variation. In addition, the fruit set temporal CV decreases with an increase in visitation rate, and increases with an increase in the variability of visitation rate (Fig. 2-B3 and D3). Overall, the effects of pollination and its spatial and temporal variability in pears cannot be disregarded, as it is one of the major factors moderating fruit yield and stability, as shown here.

In the case of apples, the only statistically significant correlation between spatial variation in fruit set and visitation rate was contrary to our prediction (i.e., higher visitation rate was related to higher spatial CV in fruit set, Fig. 2-B4). One explanation could be that the visits received by apple blossoms were sufficient for optimal pollination, thus their high variation was compensated for. In fact, previous studies support this explanation, at least for the mean fruit set value. Hünicken et al. (2020) reported no effect of visitation rate on apple mean fruit set in this system, while the estimated visitation rate necessary for adequate pollination ($0.092 \text{ visits per flower} \times 10 \text{ min}^{-1}$, Vicens and Bosch, 2000, Garibaldi et al., 2020) was exceeded by the first decile of visits to apple flowers in our study ($0.14 \text{ visits per flower} \times 10 \text{ min}^{-1}$).

Our results suggest that producers should adopt practices that promote stability in visitation rates in order to improve mean crop yield and its stability. For instance, placing small groups of beehives throughout a farm could enhance the spatial stability of visits, as each tree would be close to a hive (Cunningham et al., 2016). A study in the faba bean (*Vicia faba*) found that yield was higher and its spatial variation lower in plants close to hives (Cunningham and Le Feuvre, 2013). Additionally, it is important to guarantee good quality beehives over the seasons, as this has a direct effect on the mean yield of pears and apples (Geslin et al., 2017). However, the management of honeybees alone is not sufficient for optimal pollination (Garibaldi et al., 2013, 2020).

While our study system relies exclusively on honey bee visits, a diverse pollinator assemblage can improve the mean yield and spatial or temporal stability of pollinator-dependent crops through several mechanisms. For example, spatial stability on a farm scale may be enhanced by different pollinator species since they are likely to have differing flight ranges and complement each other by visiting different sectors of the farm (Woodcock et al., 2013; Garratt et al., 2018). It is also possible that a species enhances its pollination efficacy in the presence of another species, via behavioral changes (Brittain et al., 2013; Eeraerts et al., 2020; Winfree and Kremen, 2009; Woodcock et al., 2013). Temporal stability between seasons could be improved due to natural uncoupled fluctuations in population abundance among different species (e.g., species that respond differently to rainy years) (Hoeft et al., 2008; Blüthgen and Klein, 2011). A previous study in this system reported that apple yield increased with the presence of both a native bumble bee and honeybees in comparison to honeybees alone (Pérez-Méndez et al., 2020). Furthermore, Kremen et al. (2004) found that both the amount and stability of watermelon pollination by native bees increased with the proportion of natural habitat in the landscape,

and recommended the conservation of these habitats to reduce farmers' reliance on managed honeybees; this would reduce both production costs and risks to farmers, while increasing not only food security for society (Garibaldi et al., 2011b), but also biodiversity in agricultural landscapes. All in all, high variability in yield can be reduced by boosting pollinator diversity, which highlights the importance of insect pollination, as shown by previous studies (Klein, 2009; Geeraert et al., 2020). Hence, producers should go beyond one species of managed pollinator and incorporate changes in land use to enrich the pollinator assemblage.

It is important to consider the social and economic consequences of yield variability, given that food stability is a dimension of food security (McGuire et al., 2015; Pinstrup-Andersen, 2009). On the producers' side, unstable harvests imply unpredictable monetary income and lead to variability in market supply. On the consumers' side, this instability has two major consequences: fluctuations in the offer of food and volatility of prices (Wheeler and von Braun, 2013; Wossen et al., 2018). While the effect of pollination on production has been evaluated in economic terms on different scales (Gallai et al., 2009; Giannini et al., 2020; Garratt et al., 2014; Borges et al., 2020; Geslin et al., 2017), the implications of variability in the pollination service for the farmers' profit and the market price warrants more attention.

5. Conclusion

Year after year, producers managing homogeneous crop systems invest strongly in fertilization and pest control. However, when cultivating pollinator-dependent crops, these systems seem to present great variability in yield due to fluctuations and deficiencies in pollinator visits to crop flowers. The results presented here demonstrate the importance of management practices that promote sufficient, stable pollination services that generate yields which are not only higher, but also more stable.

Funding

This work was supported by the Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina (PDTs, Res 298/14, Exp 374 8383/13), the Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, Argentina (PICT 2015-2333 and PICT 2018-00941), the Universidad Nacional de Río Negro, Argentina (PI 40-B-567) and the 2017–2018 Belmont Forum and BiodivERSA joint call for research proposals (under the BiodivScen ERA-Net COFUND programme and with the funding organizations AEI, Spain, NWO, Netherlands, ECCyT, Argentina and NSF, USA). CLM and MAA acknowledge the support of the SURPASS2 project funded under the Newton Fund Latin America Biodiversity Programme: Biodiversity—Ecosystem Services for Sustainable Development, grants awarded by the Natural Environment Research Council of Great Britain (NERC) [NE/S011870/1], CONICET, Argentina [RD 1984/19], FAPESP, Brazil, and CONICYT, Chile.

CRediT authorship contribution statement

LAG and PLH conceived the idea and LAG, GA, NG and PLH designed the study. PLH, NG and GA collected the data. PLH analyzed the data with substantial input from LAG. PLH and CLM led the writing of the manuscript with input from MAA. All authors gave final approval for publication.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

We thank the owners and managers of the farms for opening their doors. We are also grateful to Grecia de Groot who made valuable comments on a previous version of the manuscript, and Adrián González Chaves, Maria Ramos, Dulce Gómez Carella, Tatiana Machado de Souza, Eduardo Moreira, Rafaela Santos, Alberto Giroto, Joana Ferreira and Grecia de Groot, who assisted in the field.

Appendix A. Supporting information

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at doi:10.1016/j.agee.2021.107573.

References

- Aizen, M.A., Garibaldi, L.A., Cunningham, S.A., Klein, A.M., 2008. Long-term global trends in crop yield and production reveal no current pollination shortage but increasing pollinator dependency. *Curr. Biol.* 18 (20), 1572–1575. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.08.066>.
- Aizen, M.A., Garibaldi, L.A., Cunningham, S.A., Klein, A.M., 2009. How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production. *Ann. Bot.* 103 (9), 1579–1588. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp076>.
- Avellá, B., Landriscini, S.G., Preiss, O., 2018. Complejo frutícola de Río Negro y Neuquén. Exportaciones, principales competidores y factores que condicionan la competitividad. *Rev. Interdiscip. De Estud. Agrar.* 48, 93–126.
- Blüthgen, N., Klein, A.M., 2011. Functional complementarity and specialisation: the role of biodiversity in plant–pollinator interactions. *Basic Appl. Ecol.* 12 (4), 282–291. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.2767>.
- Borges, R.C., Brito, R.M., Imperatriz-Fonseca, V.L., Giannini, T.C., 2020. The value of crop production and pollination services in the eastern Amazon. *Neotrop. Entomol.* 49 (4), 545–556. <https://doi.org/10.1007/s13744-020-00791-w>.
- Brittain, C., Williams, N., Kremen, C., Klein, A.-M., 2013. Synergistic effects of non-Apis bees and honey bees for pollination services. *Proc. Biol. Sci.* 280, 20122767. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2010.11.001>.
- Cabrera, A.L., Willink, A., 1973. Biogeografía de América Latina. Organización de Estados Americanos, Washington DC, USA.
- Cunningham, S.A., Le Feuvre, D., 2013. Significant yield benefits from honeybee pollination of faba bean (*Vicia faba*) assessed at field scale. *Field Crop. Res.* 149, 269–275. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.05.019>.
- Cunningham, S.A., Fournier, A., Neave, M.J., Le Feuvre, D., 2016. Improving spatial arrangement of honeybee colonies to avoid pollination shortfall and depressed fruit set. *J. Appl. Ecol.* 53 (2), 350–359. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12573>.
- Dainese, M., Martin, E.A., Aizen, M.A., Albrecht, M., Steffan-Dewenter, I., 2019. A global synthesis reveals biodiversity-mediated benefits for crop production. *Sci. Adv.* 5, 0121. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax0121>.
- Deguines, N., Jono, C., Baude, M., Henry, M., Julliard, R., Fontaine, C., 2014. Large-scale trade-off between agricultural intensification and crop pollination services. *Front. Ecol. Environ.* 12 (4), 212–217. <https://doi.org/10.1890/130054>.
- Díaz, P.C., Arenas, A., Fernández, V.M., Susic Martin, C., Basilio, A.M., Farina, W.M., 2013. Honeybee cognitive ecology in a fluctuating agricultural setting of apple and pear trees. *Behav. Ecol.* 24 (5), 1058–1067. <https://doi.org/10.1093/beheco/art026>.
- Eeraerts, M., Smaghe, G., Meeus, I., 2020. Bumble bee abundance and richness improves honey bee pollination behaviour in sweet cherry. *Basic and Appl. Ecol.* 43, 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2019.11.004>.
- Ellis, J., 2012. The honey bee crisis. *Outlooks Pest Manag.* 23 (1), 35–40. <https://doi.org/10.1564/22feb10>.
- Farkas, A., Orosz-Kovács, Z., 2003. Nectar secretion dynamics of Hungarian local pear cultivars. *Plant Syst. Evol.* 238 (1–4), 57–67. <https://doi.org/10.1007/s00606-003-0268-7>.
- Foley, J.A., DeFries, R., Asner, G.P., Barford, C., Bonan, G., Carpenter, S.R., Helkowski, J. H., 2005. Global consequences of land use. *Science* 309 (5734), 570–574. <https://doi.org/10.1126/science.1111772>.
- Fox & Weisberg, 2011. An {R} Companion to Applied Regression, second ed. Sage, Thousand Oaks CA (URL). <http://socserv.socsci.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion>.
- Gallai, N., Salles, J.M., Settele, J., Vaissière, B.E., 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecol. Econ.* 68 (3), 810–821. <https://doi.org/10.1016/j.jecolecon.2008.06.014>.
- Garibaldi, L.A., Aizen, M.A., Klein, A.M., Cunningham, S.A., Harder, L.D., 2011a. Global growth and stability of agricultural yield decrease with pollinator dependence. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108 (14), 5909–5914. <https://doi.org/10.1073/pnas.1012431108>.
- Garibaldi, L.A., Steffan-Dewenter, I., Kremen, C., Morales, J.M., Bommarco, R., Cunningham, S.A., Holzschuh, A., 2011b. Stability of pollination services decreases with isolation from natural areas despite honey bee visits. *Ecol. Lett.* 14 (10), 1062–1072. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01669.x>.
- Garibaldi, L.A., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M.A., Bommarco, R., Cunningham, S.A., Bartomeus, I., 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, L.A., Sáez, A., Aizen, M.A., Fijen, T., Bartomeus, I., 2020. Crop pollination management needs flower-visitor monitoring and target values. *J. Appl. Ecol.* 57 (4), 664–670. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13574>.
- Garratt, M.P., Breeze, T.D., Jenner, N., Polce, C., Biesmeijer, J.C., Potts, S.G., 2014. Avoiding a bad apple: Insect pollination enhances fruit quality and economic value. *Agric., Ecosyst. Environ.* 184, 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.10.032>.
- Garratt, M.P.D., Brown, R., Hartfield, C., Hart, A., Potts, S.G., 2018. Integrated crop pollination to buffer spatial and temporal variability in pollinator activity. *Basic Appl. Ecol.* 32, 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2018.06.005>.
- Geeraert, L., Aerts, R., Berecha, G., Daba, G., De Fruyt, N., D'hollander, J., Honnay, O., 2020. Effects of landscape composition on bee communities and coffee pollination in *Coffea arabica* production forests in southwestern Ethiopia. *Agric. Ecosyst. Environ.* 288, 106706. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.106706>.
- Geslin, B., Aizen, M.A., Garcia, N., Pereira, A.J., Vaissière, B.E., Garibaldi, L.A., 2017. The impact of honey bee colony quality on crop yield and farmers' profit in apples and pears. *Agric. Ecosyst. Environ.* 248, 153–161. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.07.035>.
- Giannini, T.C., Costa, W.F., Borges, R.C., Miranda, L., da Costa, C.P.W., Saraiva, A.M., Fonseca, V.L.L., 2020. Climate change in the Eastern Amazon: crop-pollinator and occurrence-restricted bees are potentially more affected. *Reg. Environ. Change* 20 (1), 9. <https://doi.org/10.1007/s10113-020-01611-y>.
- Hoehn, P., Tscharnkte, T., Tyljanakis, J.M., Steffan-Dewenter, I., 2008. Functional group diversity of bee pollinators increases crop yield. *Proc. R. Soc. B: Biol. Sci.* 275 (1648), 2283–2291. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.0405>.
- Hünicken, P.L., Morales, C.L., García, N., Garibaldi, L.A., 2020. Insect pollination, more than plant nutrition, determines yield quantity and quality in apple and pear. *Neotrop. Entomol.* 1–8. <https://doi.org/10.1007/s13744-020-00763-0>.
- Jackson, J.E., 2003. *The Biology of Apples and Pears*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 268–317. (www.cambridge.org/9780521380188).
- Krebs, J.R., Wilson, J.D., Bradbury, R.B., Siriwardena, G.M., 1999. The second silent spring? *Nature* 400 (6745), 611–612. <https://doi.org/10.1038/23127>.
- Kremen, C., Williams, N.M., Bugg, R.L., Fay, J.P., Thorp, R.W., 2004. The area requirements of an ecosystem service: crop pollination by native bee communities in California. *Ecol. Lett.* 7 (11), 1109–1119. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00662.x>.
- Klein, A.M., Vaissière, B.E., Cane, J.H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S.A., Kremen, C., Tscharnkte, T., 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc. R. Soc. B: Biol. Sci.* 274 (1608), 303–313. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>.
- Klein, A.M., 2009. Nearby rainforest promotes coffee pollination by increasing spatio-temporal stability in bee species richness. *For. Ecol. Manag.* 258 (9), 1838–1845. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.05.005>.
- Klein, A.M., Hendrix, S.D., Clough, Y., Scofield, A., Kremen, C., 2015. Interacting effects of pollination, water and nutrients on fruit tree performance. *Plant Biol.* 17 (1), 201–208. <https://doi.org/10.1111/plb.12180>.
- Maccagnani, B., Ladurner, E., Santi, F., Burgio, G., 2003. *Osmia cornuta* (Hymenoptera, Megachilidae) as a pollinator of pear (*Pyrus communis*): fruit-and seed-set. *Apidologie* 34 (3), 207–216. <https://doi.org/10.1051/apido:2003009>.
- Maccagnani, B., Burgio, G., Stanisavljevic, L.Z., Maini, S., 2007. *Osmia cornuta* management in pear orchards. *Bull. Insect* 60 (1), 77. (<https://bit.ly/3our7D7>).
- McGuire, FAO, IFAD, WFP, 2015. The state of food insecurity in the world 2015: *meeting the 2015 international hunger targets: taking stock of uneven progress*. Rome: FAO, 2015. Adv. Nutr. 6 (5), 623–624. <https://doi.org/10.3945/an.115.009936>.
- Matson, P.A., Parton, W.J., Power, A.G., Swift, M.J., 1997. Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science* 277 (5325), 504–509. <https://doi.org/10.1126/science.277.5325.504>.
- Pérez-Méndez, N., Andersson, G.K., Requier, F., Hipólito, J., Aizen, M.A., Morales, C.L., Garibaldi, L.A., 2020. The economic cost of losing native pollinator species for orchard production. *J. Appl. Ecol.* 57 (3), 599–608. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13561>.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., R Core Team (2016). *nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*. R package version 3.1–124, <URL: (<http://CRAN.R-project.org/package=nlme>)>.
- Pinstrup-Andersen, P., 2009. Food security: definition and measurement. *Food Secur.* 1 (1), 5–7. <https://doi.org/10.1007/s12571-008-0002-y>.
- Ramírez, F., Davenport, T.L., 2013. Apple pollination: a review. *Sci. Hortic.* 162, 188–203. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.08.007>.
- R Core Team, 2018. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. (<https://www.R-project.org/>).
- Rubio, G., Zhu, J., Lynch, J.P., 2003. A critical test of the two prevailing theories of plant response to nutrient availability. *Am. J. Bot.* 90, 143–152. <https://doi.org/10.3732/ajb.90.1.143>.
- Ruel, J.J., Ayres, M.P., 1999. Jensen's inequality predicts effects of environmental variation. *Trends Ecol. Evol.* 14 (9), 361–366. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01664-X](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01664-X).
- Vicens, N., Bosch, J., 2000. Pollinating efficacy of *Osmia cornuta* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Megachilidae, Apidae) on 'red Delicious' apple. *Environ. Entomol.* 29 (2), 235–240. <https://doi.org/10.1093/ee/29.2.235>.
- Wheeler, T., von Braun, J., 2013. Climate change impacts on global food security. *Science* 7341 (6145), 508–513. <https://doi.org/10.1126/science.1239402>.
- Winfree, R., Kremen, C., 2009. Are ecosystem services stabilized by differences among species? A test using crop pollination. *Proc. R. Soc. B: Biol. Sci.* 276 (1655), 229–237. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.0709>.
- Woodcock, B.A., Edwards, M., Redhead, J., Meek, W.R., Nuttall, P., Falk, S., Pywell, R.F., 2013. Crop flower visitation by honeybees, bumblebees and solitary bees: Behavioural differences and diversity responses to landscape. *Agric. Ecosyst. Environ.* 171, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.03.005>.
- Wossen, T., Berger, T., Haile, M.G., Troost, C., 2018. Impacts of climate variability and food price volatility on household income and food security of farm households in East and West Africa. *Agric. Syst.* 163, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2017.02.006>.



Evaluation of interactions between honeybees and alternative managed pollinators: A meta-analysis of their effect on crop productivity

Pablo L. Hünicken^{a,b,*}, Carolina L. Morales^{c,2}, Ana E. De Villalobos^d, Lucas A. Garibaldi^{a,b,3}

^a Universidad Nacional de Río Negro. Instituto de Investigaciones en Recursos Naturales, Agroecología y Desarrollo Rural, Río Negro, Argentina

^b Consejo Nacional de investigaciones Científicas y Técnicas, Instituto de Investigaciones en Recursos Naturales, Agroecología y Desarrollo Rural, Río Negro, Argentina

^c Grupo de Ecología de la Polinización, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA), Universidad Nacional del Comahue-CONICET, San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina

^d Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS), Universidad Nacional del Sur-CONICET, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina

ARTICLE INFO

Keywords:

Apis mellifera
Crop pollination
Crop yield
Domesticated pollinators
Pollinator-dependent crops

ABSTRACT

The productivity of approximately 75% of crops worldwide depends to some extent on insect pollination. However, while global agriculture is becoming more dependent on pollinators, wild populations of pollinators are declining. For this reason, hives of *Apis mellifera* (honeybees), the most widely used pollinator, are commonly placed in the fields; in recent years, alternative managed pollinators (AMPs) such as *Bombus* spp. or *Osmia* spp. have also been used. Thus, for evidence-based pollination management, we need to know whether the pollination service provided by AMPs can replace, complement or synergistically interact with that provided by honeybees. We asked: Does crop productivity differ between fields with honeybees and those with AMPs? Does productivity increase by incorporating AMPs in addition to managed honeybees? Do the effects of managed honeybees and AMPs interact? We performed a meta-analysis based on 28 studies on 20 crops. We estimated effect sizes (ln(R)) for crop productivity (fruit/seed set, fruit/seed quality and yield) from 73 comparisons between honeybees and an AMP, and 21 comparisons between honeybees alone and honeybees plus an AMP. Overall, we found no evidence of difference in crop productivity between honeybees and AMPs when managed separately. However, the productivity of crops pollinated by honeybees together with AMPs was $22\% \pm 6$ (SE) higher than that of crops pollinated only by honeybees. Moreover, we found a weak evidence of a positive effect of beehive density on crop productivity when an AMP was added, suggesting a synergistic interaction between honeybees and AMPs. We conclude that, on average, honeybee performance is similar to that of AMPs, and that increasing the number of managed pollinator species can improve crop productivity in the short-term, particularly in systems with impoverished pollinator faunas. More generally, this review confirms the positive effect of pollinator diversity on pollination service, suggesting this can be partly recreated using a suite of managed pollinators.

1. Introduction

Worldwide, ~75% of crop species depend to some extent on animal -mostly insect -pollination for crop productivity, making this a key function of agroecosystems (Klein et al., 2007). Global agriculture is becoming steadily more dependent on pollinators, given that the increase in area devoted to agriculture experienced in the last four decades has been majorly driven by pollinator-dependent crops (Aizen et al.,

2008, 2019a). At the same time, the wild populations of pollinators that contribute to crop productivity (Garibaldi et al., 2013) are in decline due to habitat and forage loss and management practices that use vast amounts of agrochemicals (Kennedy et al., 2013; Biesmeijer et al., 2006; Goulson et al., 2010; Kremen et al., 2002; Potts et al., 2016). For this reason, to fulfill the pollination demand of pollinator-dependent crops and increase crop productivity, managed pollinators such as *Apis mellifera*, *Bombus* spp. and *Osmia* spp. are commonly placed in the fields,

* Correspondence to: Instituto de Investigaciones en Recursos Naturales, Agroecología y Desarrollo Rural, UNRN=CONICET, Anasagasti 1463, San Carlos de Bariloche, CP 8400, Río Negro, Argentina.

E-mail addresses: pablohunnicken@gmail.com, phunnicken@unrn.edu.ar (P.L. Hünicken).

¹ 0000-0001-8878-6092

² 0000-0002-9989-5347

³ 0000-0003-0725-4049

<https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.108156>

Received 29 March 2022; Received in revised form 19 August 2022; Accepted 24 August 2022

Available online 9 September 2022

0167-8809/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.

honeybees being by far the most widely used pollinator (Osterman et al., 2021; Paudel et al., 2015).

However, relying on *Apis mellifera* as a universal managed pollinator has some drawbacks. First, a recent global meta-analysis has demonstrated that deploying honeybee hives can reduce pollen limitation in self-compatible crops, but not in self-incompatible crops (Sáez et al., 2022), and despite the generalist characteristics of *Apis*, several crops are not efficiently pollinated by this species (e.g., Grass et al., 2018; MacInnis and Forrest, 2019). Second, in recent decades concern has risen over the regional increase of overwintering colony losses, especially in the United States of America and Europe (vanEngelsdorp et al., 2008; Potts et al., 2010), but also and more recently in Latin America (Requier et al., 2018). This situation has focused attention on alternative managed pollinators (hereafter, AMPs), such as some species of bumblebees (*Bombus* spp.) and solitary bees like *Osmia* spp. or *Megachile* spp.. A recent study has reviewed 66 insect species that have been managed or have the potential to be managed for crop pollination (Osterman et al., 2021). In spite of this increasing interest in AMPs, to date there is no quantitative synthesis that compares their performance, in crop productive variables, with that of the most important managed pollinator worldwide, the western honeybee *Apis mellifera* (but see Junqueira et al., 2021).

The productivity of pollinator-dependent crops improves with greater abundance and/or diversity of pollinators through several potential mechanisms (Winfree and Kremen, 2009; Garibaldi et al., 2013). The first is niche complementarity, when different species forage under different environmental conditions (Blüthgen and Klein 2011, Hoehn et al., 2008, Ellis et al., 2017). The second, sampling effect, occurs when greater richness increases the probability of including a species that can provide effective pollination (Klein et al., 2009; e.g., solitary bees pollinate alfalfa crops more efficiently than honeybees do). These two mechanisms imply that the observed effect of richness or diversity on productivity is due to complementarity or an additive effect (that is, productivity increases linearly with the inclusion of more species). Finally, a third mechanism is the synergistic interaction between species, when the efficiency of a species is increased in the presence of another species through behavior modification (Winfree and Kremen, 2009). In this case, in an environment with more pollinators the productivity of a crop will be greater than the sum of the productivity of that crop when pollinated by each pollinator species separately. Indeed, there is a paucity of studies that have spotted synergistic interaction between *Apis mellifera* and wild species of bees. For instance, DeGrandi-Hoffman and Watkins (2000) found that the amount of pollen in the body of managed honeybees increased with the abundance of non-*Apis* bees. In addition, Eeraerts et al. (2020a) found that honeybees changed between sweet cherry tree rows more frequently as wild bumblebees increased in abundance. This behavioral change was also observed to be produced with the presence of other non-*Apis* bees (Brittain et al., 2013; Greenleaf and Kremen, 2006). Exploring how these different mechanisms play out with *Apis mellifera* and AMPs could make more efficient pollination management possible. Moreover, the effect on productivity of increasing the number of managed pollinators and the interaction between managed pollinators have been investigated much less, and may give new insights into the role of AMPs in pollination services.

Evaluation of the pollination carried out by pollinators normally focuses on the study of single visit effectiveness in terms of pollen deposition or seed or fruit formation (reviewed in Page et al., 2021). This approach is especially valuable in community and network studies, since it enables us to distinguish between mere flower visitors and effective/efficient pollinators; i.e., those flower visitors that deposit conspecific pollen on a flower's stigmatic surface (Ne'eman et al., 2010, King et al., 2013). However, crop pollination in agro-ecosystems is the result of several visits received during the time of crop flower receptivity (see Table 1 in Garibaldi et al., 2020). Since recommendations for agricultural practices should be based on farmer-relevant scales, measurements, and units tested in real-world settings, we aimed to evaluate, on a

Table 1

Overall effect sizes for comparative (i.e., alternative managed pollinator vs *Apis mellifera*) and additive experimental designs (*Apis mellifera* plus alternative managed pollinator vs *Apis mellifera*). Overall effect size shows the 95% confidence interval in brackets. N = number of comparisons analyzed. The number of studies included in the analysis are given in parenthesis.

	Number of comparisons for each response variable		
	Fruit/seed set	Quality	Yield
Comparative	-0.08 [- 0.22, 0.06] N = 37 (13)	-0.06 [- 0.13, 0.01] N = 16 (9)	-0.35 [- 1.00, 0.30] N = 20 (12)
Additive	0.22 [0.10, 0.35] N = 21 (11)	–	–

farm scale, the final effect of honeybees and AMPs on crop productivity; i.e., fruit set (e.g., fruit per flower), seed set (e.g., seeds per fruit), their quality (e.g., weight), and/or crop yield (e.g., tn/ha).

In this work we synthesized and quantified current scientific knowledge on the effect of honeybees and alternative managed pollinators on crop productivity. With a meta-analysis approach, we sought to answer the following questions: 1) Does crop productivity differ between honeybee and AMP pollinated fields? 2) Does the incorporation of AMPs in addition to managed honeybees increase crop productivity? 3) Does the effect of managed honeybees interact with the effect of AMPs?

2. Materials and methods

2.1. Literature search and data collection

We performed a literature search in Scopus, covering publications from 1962 to 2022 (last search November 23, 2021) using the following search strings: “Pollination” AND (“Fruit set” OR “Seed set” OR “Yield” OR “Production” OR “Productivity”) AND (“Apis” OR “Honeybee” OR “Honey bee” OR “Honeybees” OR “Honey bees”) AND (“Bombus” OR “Bumblebees” OR “Bumble bees” OR “Bumblebee” OR “Bumble bee” OR “Osmia” OR “Megachile” OR “Solitary bees” OR “Melipona” OR “Xylocopa”). A total of 349 articles were found. Given that Scopus is only capable of searching in titles, abstracts and keywords, we performed a complementary search using Google Scholar, which provides a full-text search.

Studies were comprehensively screened to assess whether they met the following criteria. First, the pollination must be performed by managed honeybees and at least one AMP. Second, the studies must evaluate the effect of crop pollination on any measure of crop productivity (i.e., fruit/seed set, fruit/seed quality, and/or crop yield (e.g., kg/ha)). Hence, we did not consider studies evaluating the effectiveness and/or efficiency of a single visit on pollen deposition or crop production, or other behavioral aspects of pollinators (e.g., frequency of switching between trees, Eeraerts et al., 2020b). In addition, studies in which management conditions varied between pollinator treatments (e.g., *Apis mellifera* in open field vs. *Bombus* spp. in a greenhouse) were also discarded. When the title and abstract screening leave doubts whether the study met with our criteria, we proceed to the full text screening.

We categorized the studies according to three experimental designs: comparative, additive and interactive. Studies with a comparative design applied the following two treatments: *Apis mellifera* vs AMPs. Studies with additive design applied the following two treatments: *Apis mellifera* vs *Apis mellifera* plus AMPs. Interactive design applied the following three treatments: *Apis mellifera* vs AMPs vs *Apis mellifera* plus AMPs. Therefore, the interactive design could be considered a combination of the previous two designs. Indeed, the data from this design were incorporated in the meta-analyses of the first two designs.

For each study we extracted the mean, standard deviation and number of observations of fruit/seed set, fruit/seed quality, and/or yield (e.g., kg/ha). When some of these values were missing, we tried to contact the authors. If the data were presented graphically, we extracted the values using the software *PlotDigitizer* (<http://plotdigitizer.com>).

sourceforge.net). We also classified the degree of pollinator dependence of each crop using the categories of Klein et al. (2007) (see Supp. Mat. 2 ibidem). When a crop was not classified, we were able to categorize it based on the result of that study, following the methods of Klein et al. (2007). This was done using the data of open and exclusion treatments performed in those studies. Tables A.1 and A.2 (Appendix) list all articles found.

2.2. Data analysis

For the calculation of effect sizes and statistical analysis, we only used studies with complete data (i.e., mean, SD and N, Tables A.1 and A.2). The effect sizes calculated represent the relative difference between the effects of the pollination treatments (i.e., *Apis* vs AMP, or *Apis* vs *Apis* plus AMP) on the crop productivity variable. When a study reported results for more than one year the effect sizes were calculated separately for each year, and all were included in the model. In studies that reported results of individual farms, we calculated the mean of all the farms together. To compare the responses to treatments in terms of crop productivity, we used the natural logarithm of the response ratio (i.e., $\ln(R)$) between treatment “AMP” (for comparative designs) or “*Apis* plus AMP” (for additive designs) and “*Apis*” as effect size. This metric linearizes and normalizes the relative difference between two treatments, as a measure of effect size across the studies. $\ln(R)$ was estimated as X_{AMP}/X_{Apis} for the comparative design, and as $X_{AMP+Apis}/X_{Apis}$ for the additive design, where X_{AMP} , $X_{AMP+Apis}$ and X_{Apis} are the mean crop productivity values observed in experimental settings deploying AMP, AMP plus *Apis* or *Apis*, respectively. A positive value in the comparative design analysis (first question) indicates that crop productivity was higher with AMP than with *Apis* alone, whereas in the additive design analysis (second question), it indicates higher productivity with *Apis* plus alternative pollinator than with *Apis* alone. A negative value indicates the opposite, while the null value represents no difference between treatments. Calculations were made with R software (R Core Team, 2021), effect sizes were calculated with *escalc* function and overall effect sizes were calculated with *rma.mv* function, both from the ‘metafor’ package (Viechtbauer, 2010). Because responses in the same study are not completely independent, we included the study identity (study ID) as a random factor. It would have been desirable to also include crop species as a random factor, since there could be trends resulting from comparing crops with different characteristics. However, since most crop species were only represented in one study (Tables A.1 and A.2 in Appendix), adding this variable as a random factor did not add new information to our models. So the random factor “study ID” works as a composite variable that considers both the effect of the crop species together with the experimental setting of a given study. Publication bias was graphically tested using funnel plots (Fig. A.1 in Appendix).

We decided to run three separate meta-analyses, one for fruit/seed set, one for fruit/seed quality, and one for crop yield, since these variables might not necessarily be governed by the same physiological and ecological processes and therefore can even show contrasting responses (Dennis, 2000; Davis et al., 2004; Greene and Costa 2012). However, this was only possible for the comparative design, because we lacked sufficient data from additive design to test fruit/seed quality and yield (7 and 4 effect sizes respectively); we therefore drew up a model only for fruit/seed set response.

Finally, due to the low quantity of studies with the interactive design, we could not perform an individual meta-analysis for this design. To answer the question of whether honeybees interact with AMP, we therefore took the following approach: For the studies with an additive design, we registered honeybee hive density (it was informed in all studies as hives per ha.) and then regressed fruit/seed set effect size as a function of hive density. If the honeybees interact with AMPs, the effect sizes in additive design will be greater with greater density of beehives. Then, a positive interaction (synergy) between AMPs and *Apis mellifera*

was indicated by a positive slope. A slope close to zero points to additive effects (or a complementary effect), while a negative slope indicates negative interaction. We performed this analysis with the *lme* function of the ‘nlme’ package (Pinheiro et al., 2017). Honeybee hive density was set as a fixed effect and study ID was set as a random effect. The assumptions of normality, independence and homoscedasticity of the model were checked visually (QQ-plot, predicted vs. residuals and histogram of residuals).

3. Results

3.1. General overview

We found 43 suitable studies (31 comparative design, 9 additive design and 3 interactive design) from which we obtained the complete data needed for its inclusion in a meta-analysis, i.e., mean, standard deviation and sample size, of 28 studies (17 comparative design, 9 additive design and 2 interactive design) (Fig. 1 and Tables A.1 and A.2, Appendix). Thirty crops belonging to 12 families were studied, Rosaceae (e.g., apple, almond) being the family most represented with 15 studies; followed by Ericaceae (e.g., blueberries) and Fabaceae (e.g., alfalfa) with 5 studies each; Solanaceae (e.g., tomato) and Cucurbitaceae (e.g., pumpkin) with 4 studies each; Brassicaceae (e.g., oilseed rape) with 3 studies; Asteraceae (e.g., sunflower) with 2 studies; and Actinidiaceae (kiwifruit), Apiaceae (carrot for seed production), Lamiaceae (wood betony), Paeoniaceae (oil peony tree) and Sapindaceae (lychee) with 1 study each. Twenty-three crops were perennial while twenty were annual, and most of them were from temperate climates, with a few exceptions like sweet pepper, chili pepper and melon.

3.2. Comparisons between *Apis* and alternative managed pollinators

The 19 studies with complete data (17 from comparative design and 2 from interactive design) evaluated in 12 crops the effect of *Apis mellifera* and AMPs on crop productivity (Table A.1). Crop pollinator dependence ranged from little (production reduction of <10% in the absence of pollinators) to essential (a reduction of >90%). Alternative pollinator species belonged to the genera *Bombus*, *Osmia*, *Megachile*, *Xylocopa*, *Melipona* and *Eristalis*. Most of the studies (15) were performed under greenhouse conditions; only three were open field and one study presented both conditions.

The overall effect sizes of our three analyses (i.e., response variables fruit/seed set, quality, and yield) are given in Table 1. Visualization of funnel plots indicates no publication bias (Fig. A.1 a,b,c). The 95% confidence intervals associated with all three effect sizes overlapped zero, indicating no statistically significant evidence of difference in crop productivity between pollination carried out by managed honeybees and AMPs. However, the fruit/seed set model showed considerable heterogeneity in the response, depending on the AMP species (Fig. 2-A). While the lack of evidence of effect was consistent among *Bombus* and other genera of managed pollinators, the *Osmia* effect sizes were consistently below zero.

3.3. Effect of incorporating an alternative managed pollinator together with *Apis*

Eleven studies (including the two with the interactive experimental design) with complete data evaluated in eight crops the effect of *Apis mellifera* plus AMP on crop productivity (Table A.2). The pollinator dependence level of most of the crops studied was categorized as great (production reduction between 40% and 90%), with the exception of two crops, one whose pollinator dependence was little and the other whose dependence was modest. Alternative pollinator species belonged to the genera *Bombus*, *Osmia*, *Megachile* and *Melipona*. Unlike the comparative studies, all additive studies were conducted in the open field and did not control total pollinator abundance. Analysis of the

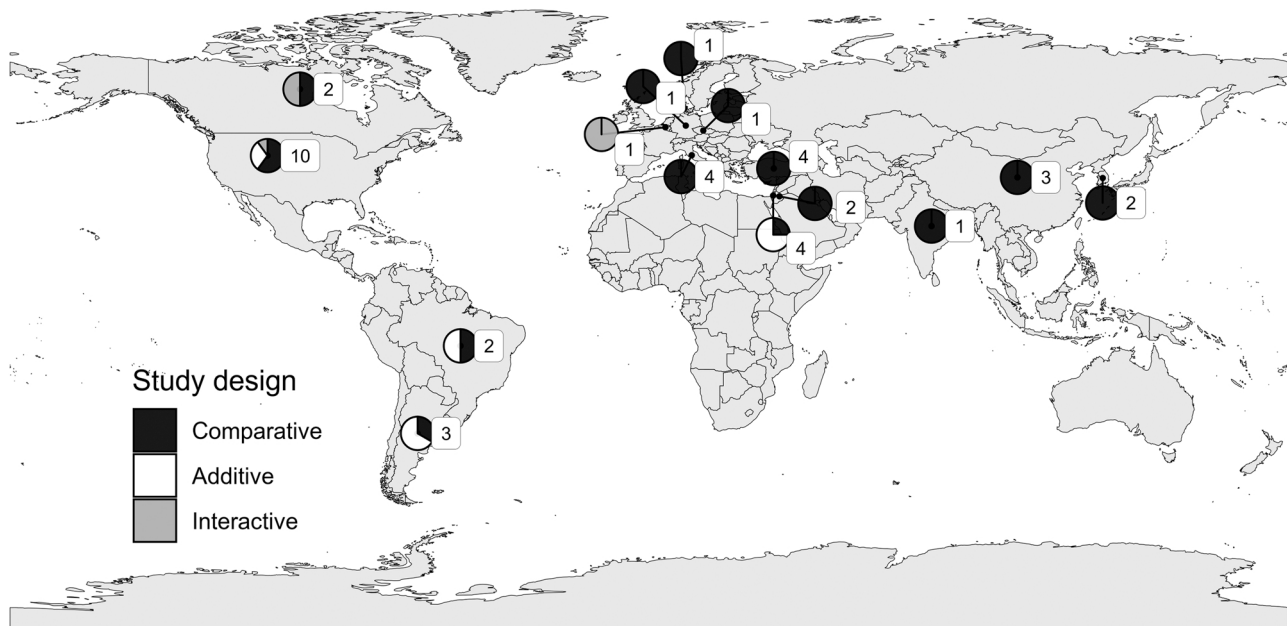


Fig. 1. Geographic distribution of the studies found. The number indicates the number of studies, while the pie charts show the proportion of each type of experimental design (black: comparative; white: additive; and gray: interactive).

fruit/seed set response showed an overall effect size (95% CI) of 0.22 (0.10, 0.35), indicating a strong ($p < 0.01$) evidence of a positive effect of the inclusion of another pollinator together with honeybees, which implies an increase of $22\% \pm 6$ (SE) in crop productivity (Fig. 2-B, Table 1). Visualization of funnel plots indicates no publication bias (Fig. A.1 d).

3.4. Evidence of interactions between *Apis* and alternative pollinators

Only 3 studies (2 of which provided full data) used the interactive experimental design (Brittain et al., 2013; Fulton et al., 2015; Smeesaert et al., 2018). Brittain et al. (2013) found evidence of a synergistic effect on almond fruit set when deploying *Apis* and *Osmia*, while Smeesaert et al. (2018) found that using *Apis* alone produced higher levels of fruit set and yield in pear crop than when using *Bombus* alone or *Apis* together with *Bombus* (i.e., negative interaction). In turn, Fulton et al. (2015) presented a plethora of analyses in several dimensions of pollination and production of apples (e.g., economic assessment, behavioral changes of managed pollinators, stigmatic pollen load); however, despite using the interactive experimental design, the data were not analyzed in this direction. We calculated the effect of the three treatments (*Apis*, AMPs and *Apis*+AMPs), and found no evidence of difference between them (i.e., no interaction, data not shown). However, our alternative approach to this question, based on the effect of beehive density, provided further insights. The effect size of adding an AMP to crops with honeybees had a marginally significant response to increasing honeybee hive density, suggesting a synergistic interaction between honeybees and AMPs ($t\text{-value}_{8DF} = 2.132$, $p\text{-value} = 0.067$, Fig. 3).

4. Discussion

Our review assessed three topics: the relative performance of alternative managed pollinators with respect to honeybee, the possibility of improving honeybee pollination with the addition of alternative managed pollinators and the interaction between honeybee and alternative managed pollinators. Here we discuss the implications of our findings, their limitations, and possible future steps for investigation.

We found no evidence of a difference between the productivity of crops pollinated by managed honeybees and those pollinated by AMPs,

particularly *Bombus*. A similar result was reported by Junqueira et al. (2021), who compared through a meta-analysis the contribution of *Apis* and non-*Apis* bees in the context of flower exclusion treatments. On the other hand, Page et al. (2021) conducted a meta-analysis of single visit efficiency and found that on a per visit basis, honeybees performed worse even than the average bee pollinator in pollinating crops (see Fig. 3 in Page et al., 2021). This result, which seemingly contradicts ours, may be explained by the high abundance and visit frequency of honeybees, which in turn may compensate for their lower per capita efficiency. The number of individuals in a honeybee hive (in the order of tens of thousands) may be several orders of magnitude higher than in a bumblebee colony box (e.g., ca. one hundred workers, Cavigliasso et al., 2020) or in the management units of solitary bees (e.g., 120 nests of *Osmia*, Pinzauti et al., 1996). For example, King et al. (2013) found that for *Agrimonia eupatorium*, the pollinator species with most pollen deposition on an hour and day basis was the least effective on a single visit basis. Similarly, Olsen (1996) defined “pollinator importance” as being the product of effectiveness and relative abundance, thus the most important pollinators of *Heterotheca subaxillaris* are those with intermediate levels of efficiency and relative abundance. Finally, Vázquez et al. (2005) showed through meta-analysis that the frequency of interaction between pollinators and flowers has a strong positive association with final pollination, rather than the per-interaction effect. While single visit efficiency studies are important for community and network studies (King et al., 2013), the results presented here highlight the value of analyzing the final effect of pollinators on crop productivity.

Comparative designs were usually implemented in greenhouses or flight cages (83% of the studies included in the meta-analysis). Although in this confined environment it could be expected that *Apis mellifera* performance would be compromised, we found no evidence of this. These findings are particularly relevant, since the global trade in bumblebees is based on the belief that *Bombus* are better pollinators than *Apis* in confined systems (Abrol, 2012; Dag, 2008). The result of this trade is immense propagule pressure, which facilitates the invasion of these species, causing a wide variety of negative impacts to native ecosystems and agriculture (Aizen et al., 2019b).

We found only eleven studies with complete data (including those with the interactive design) that analyzed the effect of deploying alternative pollinator species together with *Apis mellifera*. In 76% of fruit set

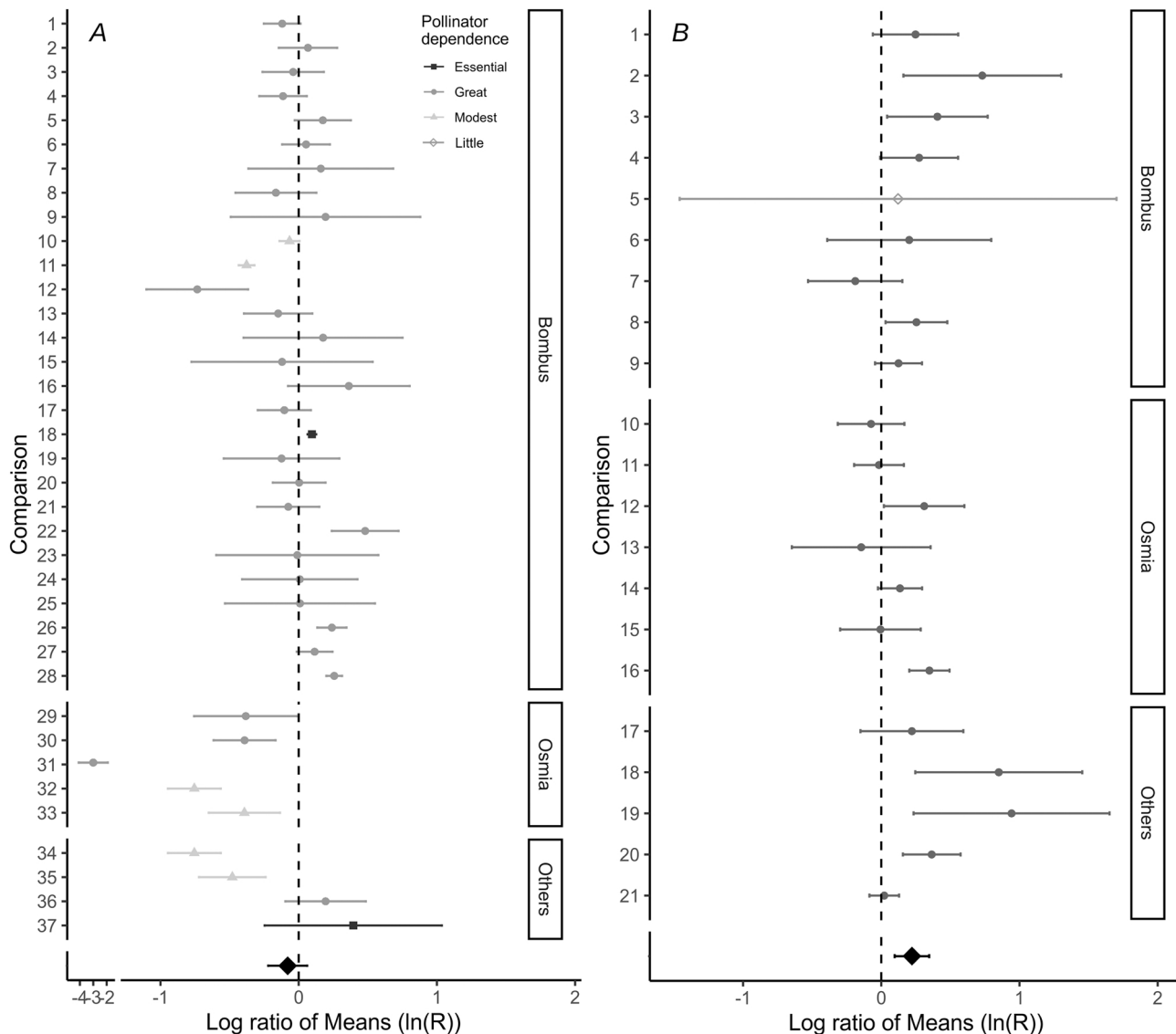


Fig. 2. Forest plot representing the effect size of fruit/seed set for each comparison for comparative and additive design analysis. The effect size represents the difference in fruit set or seed set between pollination treatments, A: alternative managed pollinator vs *Apis* and B: alternative pollinator plus *Apis* vs *Apis*. Circles, squares, triangles and rhombuses indicate the effect size comparison (and whiskers show the 95% confidence interval). The alternative pollinators studied are named on the right. Overall effect size is shown by a black diamond at the bottom of the plot. For clearer visualization comparisons were numbered, and references are given in Table A.3 (Appendix 1). A positive value in panel A (comparative design) indicates that crop productivity was higher with AMP than with *Apis* alone, whereas in panel B (additive design), it indicates higher productivity with *Apis* plus alternative pollinator than with *Apis* alone. A negative value indicates the opposite, while the null value represents no difference between treatments.

and seed set comparisons the effect was consistent and positive, leading to an overall increase in productivity of 22% (Fig. 2-B). While both complementary and synergistic interaction can produce this effect, the analysis of beehive densities suggests that the mechanism underlying this pattern is a synergistic effect (Winfree and Kremen, 2009). Furthermore, the performance of *Osmia* when comparing the comparative and the additive designs also supports this explanation. When comparing the productivity of the crops pollinated by *Apis* or *Osmia*, it can be seen that the former produced better results, so it could be expected that the combination of these two pollinators would not generate an appreciable effect. However, analysis of Fig. 2-B, reveals that additive or synergistic effects were produced by the inclusion of *Osmia*, demonstrating that pollinator richness is essential for good agricultural yields.

4.1. Caveats, limitations and future research

One important limitation of the studies included in these meta

analyses was the experimental conditions. Most comparative design studies were performed in flight cages or greenhouses, which is an uncommon condition for the majority of the crops studied. This makes any conclusion as to the effect of managed pollinators difficult to extrapolate to most real-world crop systems. In fact, Smessaert et al. (2018) explain that the negative effect they found of bumblebees and bumblebees plus honeybees was probably due to over-pollination of the pear trees in the cages assigned to those treatments (in concordance with Sáez et al., 2014). In open field studies, on the other hand, it can be difficult to distinguish between the effect of managed pollinators and other factors that may influence productivity, including wild pollinators. However, if carried out in an appropriate system, more accurate conclusions can be reached from these studies regarding the performance of these pollinators in terms of improving crop productivity.

Concerning additive and interactive studies, only one (Fulton et al., 2015) of the 12 studies controlled in some way the total number of individual pollinators in each treatment. For this reason, it is possible that

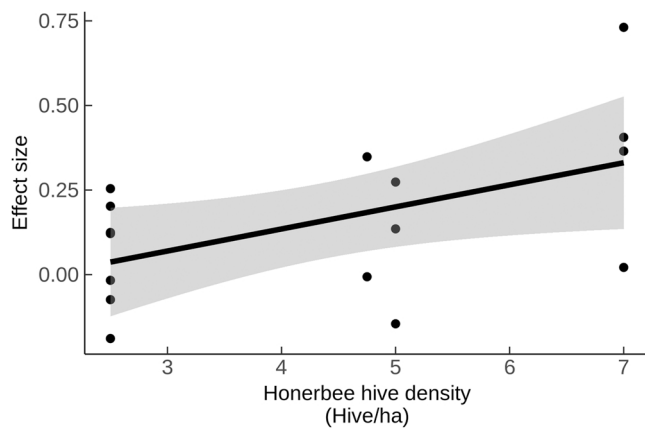


Fig. 3. Effect sizes from additive design studies versus honeybee hive density. The effect size represents the difference in fruit set or seed set between pollination treatments (*Apis* plus alternative pollinator vs *Apis*). A positive value indicates an improvement in response with the addition of an alternative pollinator. The gray band represents the 95% confidence interval of the prediction line.

the positive effect we found with the addition of AMPs to crops with honeybees is due to an increase in the absolute number of individuals visiting the crop flowers, regardless of their species. In any case, this mechanism does not explain the positive slope found in our beehive density analysis (Fig. 3), which suggest a synergistic effect between honeybees and AMPs. However, future research using these designs should incorporate an "abundance control" to prevent the misinterpretation of results and enable the effect of increasing diversity to be disentangled from the effect of increasing pollinator abundance.

Our analyses to address whether there might be synergistic interaction of honeybees and AMPs using honeybee hive density should be taken with caution. First, the number of points for analysis was very low and therefore the evidence is weak (i.e., p value = 0.067). Second, honeybee hives density might not be the best indicator of honeybee pollination performance, as honeybee hive quality is an important factor driving agricultural productivity (Geslin et al., 2017). Third, as we stated in the previous paragraph, all these studies were carried out in open field, which can introduce "noise" produced by the abundance of other insects or landscape effect. Finally, given the low quantity of studies, we do not have different densities of honeybee hive for the same crop. However, the density of honeybee hives used in each study correspond to the stocking density recommended for the crop studied (Rollin and Garibaldi, 2019). All in all, future investigations could replicate this analysis, with controls for honeybee hive quality, pollinators abundance, and a gradient of honeybee hive density.

In this work, we analyzed a multiplicity of crops with a different degree of pollinator dependence. Despite this, we were able to find strong patterns regarding the effect of honeybees and AMPs on crop productivity. Future research should investigate how these relationships change according to crop type (e.g., fruit crops or arable crops). Moreover, the pollinator dependence of the crop could modulate the effect of managed pollinators. In this study we were not able to test this issue analytically, as the data were few and unbalanced. Visual analysis does not suggest a clear pattern (Fig. 2). This can be due to several reasons. For example, crop pollinator dependence could change according to cultural practices and intra-specific variation (i.e., varieties within a crop). To address these questions, a greater number of studies and more information at intra-specific level are necessary.

It should be noted that the use of managed pollinators, whether honeybees or AMPs, is associated with several risks. First, the movement of species outside their native range can result in new species invasions (Agüero et al., 2020; Morales et al., 2013). Second, managed pollinators can spill over from crop fields to natural habitats, altering interaction

networks between native plants and pollinators (Agüero et al., 2020; González-Varo and Vila, 2017). Third, the reared pollinator species (both honeybees and AMPs) can facilitate the spread of pollinator diseases through both inter and intra specific transmission (Arbetman et al., 2013; Colla et al., 2006; Fürst et al., 2014; Meeus et al., 2018). In fact, one possible cause of honeybee colony loss is the increasing incidence of several diseases, which is probably a product of the movement of bee-hives for crop pollination across great distances (Potts et al., 2010). Furthermore, if in addition to the environmental cost of using managed pollinators we consider the economic implications of hiring pollination services, we find another reason to search for alternatives to managed pollination (Velthuis and van Doorn 2006; Rucker et al., 2012). Taking all this into consideration, it would seem advisable to encourage the application of agricultural practices to boost natural populations of wild pollinators wherever they can provide crops with reliable pollination (Garibaldi et al., 2013; Kennedy et al., 2013).

5. Conclusion

We conclude that managing crop pollination through deployment of honeybee hives combined with other AMPs may constitute a short-term strategy for increasing crop productivity, but this decision must be taken with awareness of its possible impact on biodiversity. For example, our analysis of the comparative studies shows no evidence that the effect of the honeybee on productivity does not differ, on average, from that of alternative managed pollinators, so the use of the former may have less impact in regions where beekeeping is common practice, whereas the use of AMPs may be a better choice in regions where they are native. Nonetheless, our results show that using AMPs together with *Apis*, thus increasing the number of managed pollinators, may be a good short-term option to improve crop productivity, particularly in systems with impoverished pollinator faunas.

Authors' contributions

PLH and LAG conceived the idea. PLH performed the bibliographic search and analyzed the data. PLH and CLM led the writing of the manuscript with inputs from AEV and LAG. All authors gave final approval for publication.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data Availability

Data will be made available on request.

Acknowledgment and funding

This study was supported by the Universidad Nacional de Río Negro (UNRN 40-B-854) and Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (FONCYT, PICT-2018-00941). CLM acknowledges the support of the SURPASS2 project funded under the Newton Fund Latin America Biodiversity Programme: Biodiversity-Ecosystem Services for Sustainable Development, grants awarded by the NERC, Great Britain [NE/S011870/1] and CONICET, Argentina [RD 1984/19]. We also thank to four anonymous reviewers whose comments help to improve final version.

Appendix A. Supporting information

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at [doi:10.1016/j.agee.2022.108156](https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.108156).

References

- Abrol, D.P., 2012. Pollination in cages. *Pollination Biology: Biodiversity Conservation and Agricultural Production*. Springer, New York, pp. 353–395 https://www.doi.org/10.1007/978-94-007-1942-2_11.
- Agüero, J.I., Pérez-Méndez, N., Torretta, J.P., Garibaldi, L.A., 2020. Impact of invasive bees on plant-pollinator interactions and reproductive success of plant species in mixed Nothofagus antarctica forests. *Neotrop. Entomol.* 49 (4), 557–567. <https://doi.org/10.1007/s13744-020-00787-6>.
- Aizen, M.A., Garibaldi, L.A., Cunningham, S.A., Klein, A.M., 2008. Long-term global trends in crop yield and production reveal no current pollination shortage but increasing pollinator dependency. *Curr. Biol.* 18 (20), 1572–1575. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.08.066>.
- Aizen, M.A., Aguiar, S., Biesmeijer, J.C., Garibaldi, L.A., Inouye, D.W., Jung, C., Seymour, C.L., 2019a. Global agricultural productivity is threatened by increasing pollinator dependence without a parallel increase in crop diversification. *Glob. Change Biol.* 25 (10), 3516–3527. <https://doi.org/10.1111/gcb.14736>.
- Aizen, M.A., Smith-Ramírez, C., Morales, C.L., Vieli, L., Sáez, A., Barahona-Segovia, R.M., Harder, L.D., 2019b. Coordinated species importation policies are needed to reduce serious invasions globally: the case of alien bumblebees in South America. *J. Appl. Ecol.* 56 (1), 100–106. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13121>.
- Arbetman, M.P., Meeus, I., Morales, C.L., et al., 2013. Alien parasite hitchhikes to Patagonia on invasive bumblebee. *Biol. Invasions* 15, 489–494. <https://doi.org/10.1007/s10530-012-0311-0>.
- Biesmeijer, J.C., Roberts, S.P., Reemer, M., Ohlemüller, R., Edwards, M., Peeters, T., Kunin, W.E., 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science* 313 (5785), 351–354. <https://doi.org/10.1126/science.1127863>.
- Blüthgen, N., Klein, A.M., 2011. Functional complementarity and specialisation: the role of biodiversity in plant–pollinator interactions. *Basic Appl. Ecol.* 12 (4), 282–291. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2010.11.001>.
- Brittain, C., Williams, N., Kremen, C., Klein, A.M., 2013. Synergistic effects of non-Apis bees and honeybees for pollination services. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 280 (1754), 20122767. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.2767>.
- Cavillasso, P., Bello, F., Rivadeneira, M.F., Monzon, N.O., Gennari, G.B., Basualdo, M., 2020. Pollination efficiency of managed bee species (*Apis mellifera* and *Bombus pauloensis*) in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) productivity. *J. Hortic. Res.* 28 (1), 57–64. <https://doi.org/10.2478/johr-2020-0003>.
- Colla, S.R., Otterstatter, M.C., Gegeer, R.J., Thomson, J.D., 2006. Plight of the bumble bee: pathogen spillover from commercial to wild populations. *Biol. Conserv.* 129 (4), 461–467. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.11.013>.
- Dag, A., 2008. Bee pollination of crop plants under environmental conditions unique to enclosures. *J. Apic. Res.* 47 (2), 162–165. <https://doi.org/10.1080/00218839.2008.11101444>.
- Davis, K., Stover, E., Wirth, F., 2004. Economics of fruit thinning: a review focusing on apple and citrus. *HortTechnology* 14 (2), 282–289. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.14.2.0282>.
- DeGrandi-Hoffman, G., Watkins, J.C., 2000. The foraging activity of honey bees *Apis mellifera* and non-Apis bees on hybrid sunflowers (*Helianthus annuus*) and its influence on cross-pollination and seed set. *J. Apic. Res.* 39 (1–2), 37–45. <https://doi.org/10.1080/00218839.2000.11101019>.
- Dennis Jr, F.G., 2000. The history of fruit thinning. *Plant Growth Regul.* 31 (1), 1–16. <https://doi.org/10.1023/A:1006330009160>.
- Eeraerts, M., Smagghe, G., Meeus, I., 2020a. Bumble bee abundance and richness improves honey bee pollination behaviour in sweet cherry. *Basic Appl. Ecol.* 43, 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2019.11.004>.
- Eeraerts, M., Vanderhaegen, R., Smagghe, G., Meeus, I., 2020b. Pollination efficiency and foraging behaviour of honey bees and non-Apis bees to sweet cherry. *Agric. For. Entomol.* 22 (1), 75–82. <https://doi.org/10.1111/afe.12363>.
- Ellis, C.R., Feltham, H., Park, K., Hanley, N., Goulson, D., 2017. Seasonal complementarity in pollinators of soft-fruit crops. *Basic Appl. Ecol.* 19, 45–55. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2016.11.007>.
- Fulton, M., Jesson, L.K., Bobiwash, K., Schoen, D.J., 2015. Mitigation of pollen limitation in the lowbush blueberry agroecosystem: effect of augmenting natural pollinators. *Ecosphere* 6 (11), 1–19. <https://doi.org/10.1890/ES15-00148.1>.
- Fürst, M.A., McMahon, D.P., Osborne, J.L., Paxton, R.J., Brown, M.J.F., 2014. Disease associations between honeybees and bumblebees as a threat to wild pollinators. *Nature* 506 (7488), 364–366. <https://doi.org/10.1038/nature12977>.
- Garibaldi, L.A., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M.A., Bommarco, R., Cunningham, S.A., Klein, A.M., 2013. Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honeybee abundance. *Science* 339 (6127), 1608–1611 <https://doi.org/10.1126/science.1230200>.
- Garibaldi, L.A., Sáez, A., Aizen, M.A., Fijen, T., Bartomeus, I., 2020. Crop pollination management needs flower-visitor monitoring and target values. *J. Appl. Ecol.* 57 (4), 664–670. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13574>.
- Geslin, B., Aizen, M.A., García, N., Pereira, A.J., Vaissière, B.E., Garibaldi, L.A., 2017. The impact of honey bee colony quality on crop yield and farmers' profit in apples and pears. *Agriculture, ecosystems & environment* 248, 153–161. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.07.035>.
- González-Varo, J.P., Vilà, M., 2017. Spillover of managed honeybees from mass-flowering crops into natural habitats. *Biol. Conserv.* 212, 376–382. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.06.018>.
- Goulson, D., Lepais, O., O'Connor, S., Osborne, J.L., Sanderson, R.A., Cussans, J., Darvill, B., 2010. Effects of land use at a landscape scale on bumblebee nest density and survival. *J. Appl. Ecol.* 47 (6), 1207–1215 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2010.01872.x>.
- Grass, I., Meyer, S., Taylor, P.J., Foord, S.H., Hajek, P., Tschamntke, T., 2018. Pollination limitation despite managed honeybees in South African macadamia orchards. *Agric. Ecosyst. Environ.* 260, 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.03.010>.
- Greene, D., and Costa, G., 2012, March. Fruit thinning in pome and stone-fruit: State of the art. In EUFRIN Thinning Working Group Symposia 998 (pp. 93–102). <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.998.10>.
- Greenleaf, S.S., Kremen, C., 2006. Wild bees enhance honey bees' pollination of hybrid sunflower. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103 (37), 13890–13895. <https://doi.org/10.1073/pnas.0600929103>.
- Hoehn, P., Tschamntke, T., Tylianakis, J.M., Steffan-Dewenter, I., 2008. Functional group diversity of bee pollinators increases crop yield. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1648), 2283–2291. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.0405>.
- Junqueira, C.N., Pereira, R.A.S., da Silva, R.C., Alves Cardoso Kobal, R.O., Araújo, T.N., Prato, A., Augusto, S.C., 2021. Do Apis and non-Apis bees provide a similar contribution to crop production with different levels of pollination dependency? A review using meta-analysis. *Ecol. Entomol.* <https://doi.org/10.1111/een.13092>.
- Kennedy, C.M., Lonsdorf, E., Neel, M.C., Williams, N.M., Ricketts, T.H., Winfree, R., Kremen, C., 2013. A global quantitative synthesis of local and landscape effects on wild bee pollinators in agroecosystems. *Ecol. Lett.* 16 (5), 584–599. <https://doi.org/10.1111/ele.12082>.
- King, C., Ballantyne, G., Willmer, P.G., 2013. Why flower visitation is a poor proxy for pollination: measuring single-visit pollen deposition, with implications for pollination networks and conservation. *Methods Ecol. Evol.* 4 (9), 811–818. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12074>.
- Klein, A.M., Vaissière, B.E., Cane, J.H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S.A., Kremen, C., Tschamntke, T., 2007. 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>.
- Klein, A.M., Müller, C., Hoehn, P., Kremen, C., 2009. Understanding the role of species richness for crop pollination services. *Biodiversity, ecosystem function and human wellbeing*. New York, 195–208.
- Kremen, C., Williams, N.M., Thorp, R.W., 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>.
- MacInnis, G., Forrest, J.R., 2019. Pollination by wild bees yields larger strawberries than pollination by honeybees. *J. Appl. Ecol.* 56 (4), 824–832. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13344>.
- Meeus, I., Pisman, M., Smagghe, G., Piot, N., 2018. Interaction effects of different drivers of wild bee decline and their influence on host-pathogen dynamics. *Curr. Opin. Insect Sci.* 26, 136–141. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.02.007>.
- Morales, Carolina, L., Arbetman, Marina, P., Cameron, Sydney, A., Aizen, Marcelo, A., 2013. Rapid ecological replacement of a native bumble bee by invasive species. *Front. Ecol. Environ.* 11 (10), 529–534. <https://doi.org/10.1890/120321>.
- Ne'eman, Gidi, et al., 2010. A framework for comparing pollinator performance: effectiveness and efficiency. *Biol. Rev.* 85, 3, 435–451.
- Olsen, Kenneth M., 1996. Pollination effectiveness and pollinator importance in a population of *Heterotheca subaxillaris* (Asteraceae). *Oecologia* 114–121, 109.1.
- Osterman, J., Aizen, M.A., Biesmeijer, J.C., Bosch, J., Howlett, B.G., Inouye, D.W., Paxton, R.J., 2021. Global trends in the number and diversity of managed pollinator species. *Agric. Ecosyst. Environ.* 322, 107653 <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107653>.
- Page, M.L., Nicholson, C.C., Brennan, R.M., Britzman, A.T., Greer, J., Hemberger, J., Williams, N.M., 2021. A meta-analysis of single visit pollination effectiveness comparing honeybees and other floral visitors. *Am. J. Bot.* 108 (11), 2196–2207. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1764>.
- Paudel, Y.P., Mackereth, R., Hanley, R., Qin, W., 2015. honeybees (*Apis mellifera* L.) and pollination issues: current status, impacts, and potential drivers of decline. *J. Agric. Sci.* 7 (6), 93. <https://doi.org/10.5539/jas.v7n6p93>.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., Heisterkamp, S., Van Willigen, B., & Maintainer, R., 2017. Package 'nlme'. Linear and nonlinear mixed effects models, version, 3(1).
- Pinzauti, M., Lazzarini, D., & Felicioli, A., 1996. June. Preliminary investigation of *Osmia cornuta* Latr. (Hymenoptera, Megachilidae) as a potential pollinator for blackberry (*Rubus fruticosus* L.) under confined environment. In VII International Symposium on Pollination 437 (pp. 329–334). <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1997.437.40>.
- Potts, S.G., Roberts, S.P., Dean, R., Marris, G., Brown, M.A., Jones, R., Settele, J., 2010. Declines of managed honeybees and beekeepers in Europe. *Journal of apicultural research*, 49(1), 15–22. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.49.1.02>.
- Potts, S.G., Imperatriz-Fonseca, V., Ngo, H.T., Aizen, M.A., Biesmeijer, J.C., Breeze, T.D., Vanbergen, A.J., 2016. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. *Nature* 540 (7632), 220–229. <https://doi.org/10.1038/nature20588>.
- R Core Team, 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Requier, F., Antúnez, K., Morales, C.L., Sánchez, P.A., Castilhos, D., Garrido, P.M., Giacobino, A., Reynaldi, F.J., Londoño, J.M.R., Santos, E., Garibaldi, L.A., 2018. Trends in beekeeping and honey bee colony losses in Latin America. *J. Apic. Res.* 57, 657–662. <https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1494919>.
- Rollin, O., Garibaldi, L.A., 2019. Impacts of honeybee density on crop yield: A meta-analysis. *Journal of Applied Ecology* 56 (5), 1152–1163. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13355>.
- Rucker, R.R., Thurman, W.N., Burgett, M., 2012. Honey bee pollination markets and the internalization of reciprocal benefits. *Am. J. Agric. Econ.* 94 (4), 956–977. <https://doi.org/10.1093/ajae/aas031>.

- Sáez, A., Morales, C.L., Ramos, L.Y., Aizen, M.A., 2014. Extremely frequent bee visits increase pollen deposition but reduce drupelet set in raspberry. *J. Appl. Ecol.* 51 (6), 1603–1612. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12325>.
- Sáez, A., Aguilar, R., Ashworth, L., Gleiser, G., Morales, C.L., Traveset, A., Aizen M.A., 2022. Managed honeybees decrease pollination limitation in self-compatible but not in self-incompatible crops. *Proc. R. Soc. B* 20220086. <https://doi.org/10.1098/rspb.2022.0086>.
- Smessaert, J., Torfs, J., Honnay, O., Keulemans, W. (2018, December). Pollination mix: honeybees and bumblebees as possible pollinators for *Pyrus communis* 'Conference'. In XIII International Pear Symposium 1303 (pp. 405–414). <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1303.56>.
- VanEngelsdorp, D., Hayes Jr, J., Underwood, R.M., Pettis, J., 2008. A survey of honeybee colony losses in the US, fall 2007 to spring 2008. *PloS One* 3 (12), e4071. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004071>.
- Vázquez, D.P., Morris, W.F., Jordano, P., 2005. Interaction frequency as a surrogate for the total effect of animal mutualists on plants. *Ecol. Lett.* 8 (10), 1088–1094. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00810.x>.
- Velthuis, H.H., Van Doorn, A., 2006. A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie* 37 (4), 421–451. <https://doi.org/10.1051/apido:2006019>.
- Viechtbauer, W., 2010. Conducting meta-analyses in R with the metafor package. *J. Stat. Softw.* 36 (3), 1–48. <https://doi.org/10.18637/jss.v036.i03>.
- Winfree, R., Kremen, C., 2009. Are ecosystem services stabilized by differences among species? A test using crop pollination. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1655), 229–237. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.0709>.